



Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril

Mestrado em Segurança e Qualidade Alimentar em Restauração

3ª Edição

Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril

Análise dos Fatores de Risco Associados à Distribuição de Produtos de IV Gama

Cátia Raquel Esteves Morgado

Outubro 2015

Mestrado em Segurança e Qualidade Alimentar em Restauração

3ª Edição

Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril

Análise dos Fatores de Risco Associados à Distribuição de Produtos de IV Gama

Cátia Raquel Esteves Morgado

Dissertação apresentada à Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril para obtenção do grau de Mestre em Segurança e Qualidade Alimentar em Restauração

Orientador: Professor Doutor Carlos Brandão

Outubro 2015

À memória do meu irmão

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril por permitirem as análises laboratoriais no seu laboratório.

À Eclo, por disponibilizarem os equipamentos necessários para o decorrer deste trabalho.

Às empresas de produção de produtos IV Gama, por facultarem os produtos utilizados neste estudo.

Ao meu orientador, Professor Doutor Carlos Brandão, pelos seus ensinamentos, pelo apoio constante, pela persistência e amizade.

À Dr.^a Marta Castel-Branco, pelo o apoio na análise de dados.

Aos meus colegas, Dr. Fernando Santos e Sandra Carlos, pela ajuda e apoio sempre que foi necessário.

Aos meus amigos, pela paciência, pelo apoio, por me mostrarem que tudo era possível. Um agradecimento especial Marco Rodrigues, Suzana Lopes, Joaquina Benvinda, Sílvia Santos, Pedro Simão, Ricardo Pinto, Maria Inês Silva, Inês Oliveira, verdadeiros pilares nesta etapa.

À minha prima, Brenda Morgado pelo apoio e amizade, mesmo do lado oposto do oceano.

Aos meus tios, Roberto Morgado e Raquel Morgado, por estarem sempre presentes.

Aos meus irmãos e sobrinhos, pelo apoio e paciência.

Aos meus pais, Adriano Morgado e Maria da Conceição, a quem tudo devo, por tudo o que sou hoje e por tudo o que tenho atingido. Sem vocês tudo teria sido diferente.

À minha avó Maria, à minha avó Felismina, à minha tia Camélia, ao meu tio Vítor, ao meu irmão Sérgio, pelo amor e apoio que me deram enquanto cá estiveram, acreditando sempre que era capaz e que poderia ir sempre mais além.

Ao meu avô, Francisco Morgado, por ser a minha estrela mais brilhante.

INDICE GERAL

Resumo	x
Abstract	xi
1.Introdução	1
1.1 Os produtos vegetais e os produtos de IV Gama	3
1.2 Os produtos IV Gama	7
1.3 Processamento dos produtos IV Gama.....	11
1. Colheita	12
2. Transporte	13
3. Receção	13
4. Pré-arrefecimento	13
5. Escolha.....	13
6. Calibração	14
7. Primeira lavagem.....	14
8. Preparação	14
9. Lavagem	14
10. Desinfecção	15
11. Escorrimento e centrifugação	15
1.4 Contaminação dos produtos vegetais e surtos associados	17
1.5 Microbiologia preditiva.....	20
2. Objetivos.....	25
3. Metodologia	26
3.1 Amostragem.....	26
3.2 Avaliação da qualidade microbiológica – metodologia clássica	27
Material	27
Meios de cultura	27
Suplementos de meios de cultura.....	27
Equipamentos	28
3.2.1 Preparação da amostra	28
3.2.2 Contagens totais a 30°C.....	28
3.2.3 Pesquisa e contagem de coliformes totais	29
3.2.4 Pesquisa e contagem de <i>Escherichia coli</i>	29
3.2.5 Pesquisa e contagem de <i>Enterococcus spp.</i>	29
3.2.6 Pesquisa e contagem de <i>Pseudomonas spp.</i>	29
3.2.7 Pesquisa e contagem de <i>Aeromonas hydrophyla</i>	29
3.2.8 Pesquisa e contagem de bolores e leveduras.....	30

3.3 Avaliação microbiológica – Microbiologia preditiva.....	30
3.3.1 Preparação da amostra	30
3.3.2 Medição de aW e pH.....	30
3.3.3 Utilização do programa de microbiologia preditiva – <i>Combase</i>	30
3.4 Tratamento dos resultados.....	31
4. Apresentação de resultados	32
4.1 Tabelas resumo dos resultados obtidos – metodologia clássica.....	32
4.2 Apresentação dos resultados por parâmetro.....	34
4.2.1 Contagens totais a 30°C	34
4.2.2 Pesquisa e contagem de Coliformes totais	38
4.2.3 Pesquisa e contagem de <i>Enterococcus spp</i>	41
4.2.4 Pesquisa e contagem de Bolores	44
4.2.5 Pesquisa e contagem de Leveduras	47
4.2.6 Pesquisa e contagem de <i>Pseudomonas spp.</i>	50
4.2.7 Pesquisa e contagem de <i>Aeromonas hydrophila</i>	53
4.3 Apresentação de resultados por tipo de produto	56
4.3.1 Avaliação da qualidade microbiológica do universo amostral	56
4.3.2 Avaliação da qualidade microbiológica da manga.....	57
4.3.3 Avaliação da qualidade microbiológica da salada Iceberg.....	58
4.3.4 Avaliação da qualidade microbiológica do tomate laminado.....	59
4.4 Avaliação da qualidade microbiológica - microbiologia Preditiva.....	60
4.4.1 Avaliação da qualidade microbiológica de todas as amostras	60
4.4.2 Avaliação da qualidade microbiológica da manga.....	61
4.4.3 Avaliação da qualidade microbiológica da salada Iceberg.....	62
4.4.4 Avaliação da qualidade microbiológica do tomate laminado.....	62
4.5 Análise estatística dos resultados obtidos no Combase® com os obtidos em laboratório	64
5. Discussão de resultados	69
6. Conclusões.....	76
7. Bibliografia.....	78

Índice de tabelas

Tabela 1 - Alguns exemplos de apresentação de produtos IV Gama (adaptado de (Martins & Empis, s.d.))	8
Tabela 2 - Pontos críticos associados a risco microbiológico adaptado de (Martins & Empis, s.d.)de Les Éditions du Journal Officiel, 1996.....	17
Tabela 3 - Surtos associados ao consumo de produtos vegetais.....	20
Tabela 4 - Medidas estatísticas da amostra por parâmetro microbiológico e produto.	32
Tabela 5 - – Medidas estatísticas da amostra por parâmetro microbiológico.	33
Tabela 6 - – Medidas estatísticas das AI e AF por parâmetro microbiológico e produto.	33
Tabela 7 – Medidas estatísticas das AI e AF por parâmetro microbiológico.	34
Tabela 8- Comparação dos resultados obtidos em laboratório com os obtidos pelo Combase®, para cada amostra, e as respectivas medidas estatísticas.....	64
Tabela 9 - Comparação e medidas estatísticas dos resultados obtidos em laboratório e pelo Combase® para o total das amostras.....	66

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para Contagens totais a 30°C	35
Gráfico 2 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para Contagens totais a 30°C.	36
Gráfico 3 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras para Contagens totais a 30°C.	36
Gráfico 4 – Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de Contagens totais a 30°C.	37
Gráfico 5 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para coliformes totais.	38
Gráfico 6 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para coliformes totais.....	39
Gráfico 7 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de coliformes totais.	40
Gráfico 8 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de coliformes totais.	41
Gráfico 9 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para Enterococcus spp.....	42
Gráfico 10 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para Enterococcus spp..	43
Gráfico 11 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de Enterococcus spp..	43
Gráfico 12 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de Enterococcus spp.....	44
Gráfico 13 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para Bolores.	45
Gráfico 14 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para Bolores.....	46
Gráfico 15 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de Bolores.	46
Gráfico 16 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de Bolores.....	47
Gráfico 17 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para Leveduras.....	48
Gráfico 18 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para Leveduras.	49
Gráfico 19 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de Leveduras.	49
Gráfico 20 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de Leveduras.....	50
Gráfico 21 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para Pseudomonas spp.....	51
Gráfico 22 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para Pseudomonas spp..	52
Gráfico 23 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de Pseudomonas spp.....	52
Gráfico 24 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de Pseudomonas spp.....	53

Gráfico 25 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para <i>Aeromonas hydrophila</i>	54
Gráfico 26 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para <i>Aeromonas hydrophila</i>	55
Gráfico 27 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de <i>Aeromonas hydrophila</i>	55
Gráfico 28 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de <i>Aeromonas hydrophila</i>	56
Gráfico 29 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras.	57
Gráfico 30 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras de manga.	58
Gráfico 31 - Avaliação da qualidade microbiológica da salada Iceberg.	59
Gráfico 32 - Avaliação da qualidade microbiológica do tomate laminado.	60
Gráfico 33 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras, conforme as previsões obtidas pelo Combase [®]	61
Gráfico 34 - Avaliação da qualidade microbiológica da manga, conforme as previsões obtidas pelo Combase [®]	61
Gráfico 35 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras de salada Iceberg, conforme as previsões obtidas pelo Combase [®]	62
Gráfico 36 - Avaliação da qualidade microbiológica do tomate laminado, conforme as previsões obtidas pelo Combase [®]	63
Gráfico 37- Resultados de <i>Pseudomonas</i> spp. obtidos no laboratório e no Combase [®]	67
Gráfico 38 - Dispersão e correlação dos valores de <i>Pseudomonas</i> spp. obtidos em laboratório e no Combase [®]	67
Gráfico 39 - Resultados de <i>Aeromonas hydrophila</i> obtidos no laboratório e no Combase [®] . .	68
Gráfico 40 - Dispersão e correlação dos valores de <i>Aeromonas hydrophila</i> obtidos em laboratório e no Combase [®]	68

Resumo

As ocorrências registadas de doenças de origem alimentar (DOA) e estudos microbiológicos realizados apontam os produtos vegetais de IV Gama como problemáticos ao nível da higiene e segurança alimentar. Neste trabalho avaliou-se a qualidade inicial dos produtos e também findo o tempo de vida útil definido. Por outro lado, avaliou-se a aplicabilidade da microbiologia preditiva na projeção da evolução da qualidade microbiológica neste tipo de produtos.

A amostragem foi composta por salada Iceberg, tomate laminado e manga laminada, perfazendo um total de 40 amostras. Destas, 11 correspondiam a amostras iniciais (AI) colhidas e analisadas após a produção. As restantes, correspondentes a amostras finais (AF), foram retiradas do mesmo lote que a sua respetiva AI. As AF foram encaminhadas para a cadeia de distribuição, cada uma delas acompanhada por um registador de temperatura (data logger), tendo sido colhidas e analisadas findo o seu tempo de vida útil.

A evolução da qualidade microbiológica foi avaliada em relação aos seguintes parâmetros microbiológicos: contagens totais a 30°C, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Aeromonas hydrophila*, bolores e leveduras. Em paralelo, utilizou-se o Combase® para que, matematicamente, se avaliasse a evolução da qualidade microbiológica em termos de teores de *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas hydrophila*. Para a utilização do programa foram necessários os resultados microbiológicos de cada AI, os respetivos valores de pH e aW e o perfil de temperatura registado para cada AF.

Observou-se uma elevada taxa de resultados não satisfatórios (NS), indicativo de uma má qualidade inicial do produto, sendo requeridas melhorias nos processos de lavagem e desinfecção. Todos os produtos evoluíram para resultados NS, indicando a necessidade de uma melhor monitorização da temperatura de armazenagem. Em relação à microbiologia preditiva, verificou-se uma fraca repetibilidade dos resultados, mas com relativa aplicabilidade para *Pseudomonas* spp. em salada Iceberg e manga.

Palavras-chave: evolução microbiológica, microbiologia preditiva, IV Gama, tomate, salada Iceberg, manga.

Abstract

The recorded occurrences of foodborne diseases (DOA) and microbiological studies indicate ready-to-eat products as problematic in terms of hygiene and food safety. In this work we evaluated the initial quality of products and also at the end of its shelf life. Furthermore, we evaluated the applicability of predictive microbiology in the projection of the development of microbiological quality in this type of products.

The sample consisted of iceberg salad, tomato and mango, making a total of 40 samples. From these, 11 correspond to initial samples (AI) taken and analyzed after production. The other, corresponding to final samples (AF), were taken from the same batch as their respective AI. AF were sent to the distribution chain, each accompanied by a temperature recorder (data logger), having been taken and analyzed at the end of its useful life. The evolution of microbiological quality was evaluated on the following microbiological parameters: total counts at 30 ° C, total coliforms, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp, *Pseudomonas* spp, *Aeromonas hydrophila*, molds and yeasts. In parallel, we used the Combase® to evaluate, mathematically, the evolution of the microbiological quality in terms of levels of *Pseudomonas* spp. and *Aeromonas hydrophila*. To use the program it was required the microbiological results, pH and W values of each AI, and the temperature profile of each AF.

There was a high rate of unsatisfactory results (NS), indicating poor initial quality of the product, which requires improvements for the washing and disinfection processes. All products have evolved to NS results, indicating the need for better monitoring of the storage temperature. Regarding the predictive microbiology, there was a poor repeatability of the results, but with relative applicability for *Pseudomonas* spp. in Iceberg salad and mango.

Keywords: microbiologic evolution, predictive microbiology, IV Gama, tomato, iceberg salad, mango

1.Introdução

Os produtos vegetais são produtos importantes para a dieta alimentar humana, devido à sua riqueza em hidratos de carbono e fibras. Em termos históricos, até meados do século XX a disponibilidade alimentar era menor e, por consequência, também a qualidade nutricional (Lambert, et al., 2005). Posto isto, tendo a humanidade vivido sempre em contextos de escassez alimentar, biologicamente, tornou-se mais atraída pelo consumo de alimentos ricos em nutrientes mais energéticos, justificando assim a sua preferência por sabores açucarados e gorduras (Lambert, et al., 2005). A partir da segunda metade do século XX, a disponibilidade alimentar aumentou, como consequência do desenvolvimento dos meios de transporte, aliado às modificações políticas e geográficas mundiais e ao avanço tecnológico e científico (Lambert, et al., 2005). Deste modo, acelerou-se o livre comércio de mercadorias, entre os quais se destacam os alimentos (Lambert, et al., 2005). Até aqui, em termos sociais, o acesso ao tipo de alimentos dividiam as classes pobres das ricas, onde a carne e o peixe eram apenas do alcance das primeiras, pois eram mais dispendiosos, e os produtos vegetais eram, maioritariamente, consumidas pelas classes com menos rendimentos. Os avanços tecnológicos associados aos processos de processamento e de conservação, aliados a melhores condições de distribuição e mercado, proporcionaram uma maior disponibilidade de quase todos os tipos de frutas e vegetais, com relativa boa qualidade (Silva, et al., 2007). Todos estes aspetos levaram a um aumento, a nível mundial, do consumo de produtos vegetais, que até aqui eram preteridos pelos alimentos de origem animal (Lambert, et al., 2005).

Por outro lado, também a alteração do papel da mulher na sociedade e no desenvolvimento económico, a partir da segunda metade do século XX, levaram a alterações nos hábitos alimentares (Lambert, et al., 2005). O facto de as mulheres terem passado a trabalhar, e logo a serem assalariadas, e com menos tempo dedicado à gestão das atividades domésticas, levou a um aumento nas refeições feitas fora do domicílio (Lambert, et al., 2005). Contudo, o sistema de oferta alimentar evolui muito mais rapidamente que os hábitos alimentares. Nestes últimos 60 anos a industrialização, a internacionalização e as inovações da cadeia alimentar têm vindo a aumentar significativamente, gerando, no entanto, ansiedade nos consumidores (Lambert, et al., 2005). Isto prende-se com o facto de, ainda atualmente, os consumidores terem uma

ideia minimalista dos processos inerentes à produção alimentar (Lambert, et al., 2005). A distância entre os diversos intervenientes e os consumidores aumentou de modo significativo, mas estes últimos continuam a ter a mesma imagem agrícola e artesanal representativa da produção rural até aos anos sessenta do século XX (Lambert, et al., 2005). Ao aperceberem-se da quantidade de intervenientes e interessados nestes processos, os consumidores tornam-se ansiosos e desconfiados quanto à segurança dos alimentos produzidos e fornecidos, pois entendem que quantos mais os intervenientes maiores as probabilidades de falha durante o processo que decorre do “prado ao prato”. O que não é de todo uma ideia errónea. Realmente, o facto de existirem tantas etapas e intervenientes obrigam a que haja um controlo mais rigoroso ao nível das boas práticas, tanto agrícolas como de fabrico (Lambert, et al., 2005).

Não só os fatores sociais e económicos contribuíram para o aumento da procura dos produtos vegetais. O consumo deste tipo de produtos tem vindo a crescer mundialmente também pelas suas características dietéticas. Os consumidores procuram-nos por serem uma boa fonte de fibras dietéticas, hidratos de carbono, fitoquímicos, minerais e vitaminas (Chun, et al., 2010). Com menor relevância, mas também importante, é o facto das dietas *vegan* e vegetarianas terem vindo a ganhar popularidade (ICMSF, 2005).

Em meados da década de 70 surgem os produtos de IV Gama. Estes são produtos vegetais prontos a utilizar que vêm colmatar as necessidades das pessoas quanto à flexibilidade e conveniência dos produtos. Estes produtos aparecem aliados ao desenvolvimento da cadeia de frio, que permite o armazenamento dos produtos em congeladores e frigoríficos (Lamikanra, 2002) sendo a refrigeração um fator importante para a manutenção dos mesmos.

Se o avanço das tecnologias alimentares culminou no aumento da disponibilidade alimentar, como no desenvolvimento de produtos que fossem ao encontro das necessidades dos consumidores, tanto sociais como económicas, por outro lado, as tecnologias aplicadas aumentaram os perigos associados, maioritariamente relacionados com microrganismos patogénicos (Silva, et al., 2007). O aumento da procura de vegetais, por parte dos consumidores, sejam eles frescos, IV Gama e / ou orgânicos, e com o aumento das importações dos produtos frescos oriundos de países onde as condições sanitárias poderão ser piores, têm levado a um aumento do número de surtos

de gastroenterite humana associados ao consumo deste tipo de produtos (McMahon & Wilson, 2001). A segurança alimentar é tão importante para o consumidor, como para a indústria alimentar, como para a economia (Jevsnik, et al., 2008). Atualmente, existem dados suficientes que indicam a relação dos produtos vegetais crus com potenciais agentes patogénicos alimentares. A contaminação dos produtos por estes agentes ocorre durante o crescimento, na colheita, na pós colheita, ou durante a sua distribuição (McMahon & Wilson, 2001). Tal como qualquer outro produto alimentar, as etapas que decorrem do “prado ao prato” deverão garantir que o produto final a ser consumido não apresenta perigo (Lambert, et al., 2005).

1.1 Os produtos vegetais e os produtos de IV Gama

Entende-se por produto vegetal toda a componente edível da planta, nomeadamente, folhas, caules, raízes, tubérculos, bolbos, flores, frutas e sementes (Ray & Bhunia, 2013). Os principais componentes dos vegetais são a água, a fibra, o amido, algumas vitaminas, minerais e alguns lípidos (ICMSF, 2005). Pela sua composição nutricional, os vegetais são uma importante fonte energética na alimentação, dos seus componentes, os que se encontram em maior quantidade são os glucídicos (Martins & Empis, s.d.). Os vegetais apresentam teores de hidratos de carbono na ordem dos 5% ou mais, no entanto as frutas apresentam teores destes compostos na ordem dos 10% ou mais (Ray & Bhunia, 2013).

Nas células vegetais os glucídicos encontram-se sob a forma de açúcares simples, ou sob a forma de polímeros (Martins & Empis, s.d.). Os açúcares simples são moléculas com baixa massa molecular, dos quais os principais são a sacarose, a glucose e a frutose, com variações quantitativas de fruto para fruto (Martins & Empis, s.d.). Os frutos apresentam teores de açúcares simples mais elevados que os restantes vegetais, sendo que os frutos tropicais e subtropicais são mais ricos nestes compostos que os restantes (Martins & Empis, s.d.). Os polímeros apresentam uma elevada massa molecular dividindo-se em macromoléculas estruturais – as fibras – em macromoléculas de reserva energética (Martins & Empis, s.d.). A celulose, a pectina e a hemicelulose são macromoléculas estruturais, sendo o amido o exemplo de uma macromolécula de

reserva energética (Martins & Empis, s.d.). Apesar de não serem digeríveis pelo ser humano, são uma importante componente da dieta alimentar humana (Martins & Empis, s.d.).

Para além dos teores de glúcidos, as frutas e os restantes vegetais também diferem nos valores para os restantes teores nutricionais e nos valores de pH. Com exceção das sementes, os vegetais são pobres em proteínas (ICMSF, 2005). As frutas apresentam teores proteicos inferiores ou iguais a 1%, enquanto os restantes vegetais apresentam valores entre 1 a 2% de teor proteico (Ray & Bhunia, 2013). Os produtos vegetais são as principais fontes de vitaminas, tanto hidrossolúveis como lipossolúveis (Martins & Empis, s.d.). Das vitaminas hidrossolúveis incluem-se a vitamina C, as vitaminas do complexo B – sendo estas em teores sem significância nutricional - e em vitamina PP (Martins & Empis, s.d.). Relativamente às vitaminas lipossolúveis, nos vegetais de folha verde estão presentes as vitaminas A, D, E e K (Martins & Empis, s.d.). Para além destas, os vegetais são ainda uma fonte importante de beta-caroteno, precursor da vitamina A (Martins & Empis, s.d.). Os vegetais de folha verde são também uma fonte importante de ácido fólico (Martins & Empis, s.d.). Quanto a minerais, os vegetais apresentam baixo teor mineral, destacando-se as frutas que teores inferiores aos dos restantes vegetais (Martins & Empis, s.d.). Apesar de baixos teores em minerais, os vegetais são fontes importantes de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, alumínio, fósforo e cloro (Martins & Empis, s.d.). Os minerais apresentam-se sob a forma de sais ou como parte de complexos orgânicos como a clorofila (Martins & Empis, s.d.).

Os produtos vegetais possuem ainda compostos voláteis, nomeadamente monoterpenos, aldeídos, cetonas e álcoois. Estes compostos têm concentrações mínimas na ordem das 100mg por 100 g de matéria fresca, não apresentando por isso valor nutricional significativo (Martins & Empis, s.d.). Porém, são fundamentais em conferir o aroma e sabor característicos aos produtos vegetais, influenciando de forma indireta o consumo deste tipo de produtos (Martins & Empis, s.d.). Para além dos voláteis, os vegetais possuem ainda compostos fenólicos, como o ácido clorogénico e os taninos que, para além influenciarem o sabor, conferem adstringência aos produtos em que se encontram (Martins & Empis, s.d.). Os compostos fenólicos poderão no entanto provocar problemas a nível tecnológico, uma vez que na presença das enzimas, como a

polifenoloxidase, sofrem processos oxidativos que, conseqüentemente, levam ao escurecimento dos tecidos e, muitas das vezes, à perda de valor comercial (Martins & Empis, s.d.).

Os produtos vegetais possuem ainda na sua composição óleos essenciais antimicrobianos e ácidos orgânicos (Ray & Bhunia, 2013). A presença de ácidos orgânicos provoca a acidificação do produto, conferindo-lhe baixos valores de pH o que, conseqüentemente favorece o controle do desenvolvimento microbiano nos tecidos (Ray & Bhunia, 2013). Os ácidos orgânicos com maior predominância nos vegetais são o ácido L-málico, seguido do ácido cítrico – com concentrações elevadas nos frutos citrinos e nos frutos tropicais – seguido do ácido tartárico – com concentrações elevadas nas uvas (Martins & Empis, s.d.). Contudo, estes ácidos apresentam maiores concentrações nas frutas, com valores de pH iguais ou menores a 4,5 (Ray & Bhunia, 2013). Os restantes vegetais apresentam valores de pH elevados, entre os 5 e os 7 (ICMSF, 2005) (Ray & Bhunia, 2013). Posto isto, tendo em conta a sua composição e o elevado pH, se o valor de aW for favorável, é esperado que ocorra um grande desenvolvimento microbiano (ICMSF, 2005) (Ray & Bhunia, 2013) (Jay, 2000). Existem autores (Jay, 2000) que referem que o aumento da temperatura pode levar à diminuição do pH. No entanto, no caso dos produtos que são vendidos frescos ou como IV Gama, que não sofrem tratamento térmico antes do seu consumo, as temperaturas de armazenamento deverão ser temperaturas de refrigeração, uma vez que esse será o fator chave para a inibição do desenvolvimento microbiano.

No que respeita a qualidade dos produtos vegetais esta poderá ser avaliada por diferentes aspetos, nomeadamente pela qualidade organolética, a qualidade sanitária, a qualidade de aspeto e apresentação e a qualidade comercial ou de serviço (Institut Pasteur de Lille, 1993). A qualidade organolética é influenciada pela quantidade de açúcares presentes e da acidez (como já fora referido); aroma; textura (se é crocante ou farinhenta); suculência (Institut Pasteur de Lille, 1993). No entanto, sendo a qualidade organolética uma qualidade subjetiva, uma vez que depende da apreciação e perceção de cada indivíduo, torna-se difícil a sua apreciação e a sua definição estatutária (Institut Pasteur de Lille, 1993). Contudo, esta está relacionada com a maturidade dos produtos, para a qual se poderá utilizar o índice refratométrico – valor mensurável (Institut Pasteur de Lille, 1993). A qualidade sanitária está associada à presença ou ausência de

resíduos, devendo-se ter em conta a limpeza dos produtos e dos materiais de contacto (embalagens) (Institut Pasteur de Lille, 1993). O controlo da qualidade sanitária é orientado para a ausência de toxicidade, de excesso de resíduos agrotóxicos, de conservantes e de outros contaminantes (por exemplo, aflotoxinas em amendoins) (Institut Pasteur de Lille, 1993). A qualidade de aspeto e apresentação é definida pelas normas comuns de qualidade, podendo estas ser nacionais ou comunitárias. A qualidade do serviço está relacionada com a capacidade de conservação e com a vida útil do produto (Institut Pasteur de Lille, 1993). As técnicas de conservação, tais como as utilizadas nos produtos de IV Gama, visam facilitar a utilização destes produtos pelo consumidor. A qualidade do serviço relaciona-se ainda com o uso do produto, no sentido da sua facilidade de utilização ao nível da distribuição, da restauração e do consumidor (Institut Pasteur de Lille, 1993).

1.2 Os produtos IV Gama

Os produtos vegetais podem se dividir em conjuntos distintos, denominados por gamas (terminologia francesa) (Martins & Empis, s.d.):

I Gama – produtos vendidos frescos sem qualquer tipo de processamento, podendo ser embalados ou não. A embalagem destes produtos tem uma função meramente estética, não apresentando função de conservação .

II Gama - produtos processados e vendidos sob a forma de conserva. Apresentam um grau de transformação variável e são estáveis à temperatura ambiente, tendo a embalagem aqui a função de conservação.

III Gama - produtos ultracongelados cuja apresentação pode apresentar um grau de transformação variável em relação à matéria-prima.

IV Gama – produtos sujeitos a processamento mínimo, lavados, cortados e / ou descascados mantidos sob refrigeração e prontos a utilizar.

V Gama - produtos pré-cozinhados, conservados sob sem congelação, e que estão prontos a consumir de imediato ou após um curto aquecimento.

Os produtos IV Gama, também denominados por frescos cortados ou por produtos vegetais minimamente processados, são todos os vegetais que sofreram alterações físicas quanto à sua forma original (Lamikanra, 2002), podendo ser picados, desfiados, descascados, entre outras transformações (ICMSF, 2005). Resumidamente são produtos prontos a usar, frescos e cujas células e tecidos estão vivos que mantêm a frescura e a qualidade do produto inteiro (Oliveira, et al., 2011). Os processos tecnológicos a que são sujeitos visam a manutenção de uma elevada qualidade sensorial e nutricional (Lamikanra, 2002). Estes produtos são utilizados para consumo direto e podem ser apresentados com diferentes aspetos consoante o produto, conforme alguns exemplos apresentados no quadro abaixo (Quadro 1).

Tabela 1 - Alguns exemplos de apresentação de produtos IV Gama (adaptado de (Martins & Empis, s.d.))

Estrutura vegetal	Tipo de vegetal	Modo de apresentação
Folhas inflorescência	Acelga	Desfolhada Laminadas Fatiadas Cortada em floretes Inteira
	Alface	
	Brócolo	
	Couve	
	Chicória	
	Couve-flor	
	Espinafre	
Raízes e caules tuberosos	Batata	Inteiro
	Cebola	Brunesa
	Cenoura	Laminado
	Rabanete	Rodelas
		Palitados
Frutos		Ralado
	Beringela	Inteiro
	Feijão verde	Brunesa
	Pepino	Laminado
	Pimento	Rodelas
		Palitado
		Ralado

Como resposta à necessidade e procura da simplificação das refeições e de as tornar aprazíveis e diversificadas (Martins & Empis, s.d.), pelas alterações políticas e socioeconómicas durante a década de sessenta (Lambert, et al., 2005), surgem na década de setenta os produtos IV Gama nos Estados Unidos da América (Oliveira, et al., 2011). Ao longo das últimas décadas, o seu mercado tem vindo a aumentar exponencialmente (Valentin-Bon, et al., 2008), como consequência da mudança no poder económico e na atitude do consumidor (Lambert, et al., 2005). Na Europa, nomeadamente em França e

Inglaterra, estes produtos começaram a ser procurados a partir da década de 80, sendo um mercado que atualmente está disseminada por vários os países (Lamikanra, 2002).

Em Portugal, estes produtos só começaram a ter uma importância significativa, em termos de mercado, durante a década de noventa (Dias, 2007). Esta demora de entrada no mercado português foi motivada por questões económicas e sociológicas. Em termos económicos, estes produtos eram considerados caros tendo em conta os rendimentos da altura, e em termos sociológicos os portugueses são um povo mais cético face a este tipo de produtos (Dias, 2007). O mercado português, no que concerne a produtos IV Gama, é um mercado ainda em expansão com rácios de consumo muito inferiores à média europeia (Jorge, 2006). Inicialmente, o agrião e o espinafre foram os produtos IV Gama com um maior índice de aceitação, ao passo que os restantes produtos do género eram vistos como produtos complementares e adquiridos esporadicamente (Dias, 2007). Hoje em dia, os produtos IV Gama encontram-se em praticamente todas as cadeias de distribuição (Dias, 2007), e o seu volume de vendas tem vindo a aumentar (Jorge, 2006). A aceitação e familiarização com os produtos IV Gama deveu-se muito a ações de marketing tomadas pelas empresas, nomeadamente, campanhas e promoções nos pontos de venda e posicionamento do produto (Dias, 2007). O perfil do consumidor português de produtos IV Gama é muito abrangente pois, de modo geral, qualquer consumidor de vegetais, residente em zonas urbanizadas, poder-se-á considerar como consumidor de IV Gama (Dias, 2007). Quanto à segmentação geográfica do mercado, a Grande Lisboa é a zona com maior consumo de produtos IV Gama *per capita* (Dias, 2007). Dos diversos produtos IV Gama existentes no mercado português, os consumidores têm preferência pelas saladas (saladas mistas) e pelos preparados para sopas (verduras) (Jorge, 2006).

Tal como já fora referido, os produtos IV Gama apresentam-se sob variadas formas, uma vez que, para além dos diversos vegetais passíveis de se utilizarem, estes podem sofrer diferentes formas de preparação (Martins & Empis, s.d.). Desta forma, o consumidor tem uma grande variedade de escolha, sendo que cada uma das misturas preparadas tem por base os hábitos alimentares dos consumidores e a compatibilidade entre os vegetais (Martins & Empis, s.d.). Estes produtos representam um segmento em constante crescimento, tanto ao nível do retalho como da indústria alimentar onde os maiores objetivos dos produtores passam por produzir produtos de conveniência com

qualidade idêntica aos produtos frescos e com valor nutricional (Beirão-da-Costa, et al., 2006). A conveniência e os benefícios associados à saúde são duas das principais motivações para a compra destes produtos (Beirão-da-Costa, et al., 2008). Contudo, para além destes dois aspetos, os consumidores vêm como pontos fortes destes produtos a sua qualidade higio sanitária, o facto de apresentarem baixos resíduos de aditivos alimentares, a diminuição de volume a transportar tal como a diminuição do volume de desperdício, e o facto de os produtos manterem as qualidades sensoriais e nutricionais dos produtos que lhes deram origem (Lambert, et al., 2005). No entanto, até que ponto isto realmente se verifica?

Quando comparados com os produtos que lhes dão origem, os produtos IV Gama apresentam um período de vida útil mais diminuto. Ao passo que o seu congénere não transformado poderá atingir meses de conservação, os produtos IV Gama vêm a sua conservação limitada a alguns dias, pois o processamento dos produtos acelera a sua taxa de degradação (Lamikanra, 2002). A taxa de degradação aumenta pela ocorrência de diversos fatores como: o aumento da superfície de contacto; a lixiviação de vitaminas, sais minerais, açúcares e ácidos aquando as operações de lavagem e desinfecção; a perda da integridade celular; a ocorrência de alterações fisiológicas, reflexo do aumento das taxas respiratória e de produção de etileno; a ocorrência de reações de oxidação; a eliminação da flora seletiva com diminuição do efeito competitivo. A conjugação destes fatores refletir-se-á na degradação da cor; em alterações de sabor; na perda do valor nutricional; na alteração da qualidade funcional; no possível aumento do desenvolvimento microbiano (Lamikanra, 2002). Posto isto, verifica-se que não é fácil manter os atributos naturais dos vegetais, mecanicamente danificados durante o processamento (Oliveira, et al., 2011).

Quanto à microbiota destes produtos, esta é muito variável e complexa (Valentin-Bon, et al., 2008) e durante o processamento dos produtos, para produção de IV Gama, estes ficam sujeitos a todo o tipo de contaminação (Pinheiro, et al., 2005). Durante o processamento, os microrganismos conseguem penetrar os tecidos mais facilmente (Pinheiro, et al., 2005), vendo o seu desenvolvimento favorecido pela formação de exsudados ricos em nutrientes (Oliveira, et al., 2011). Nos últimos anos têm vindo a ser desenvolvidos trabalhos de desenvolvimento de produto em resposta à crescente procura, tal como em paralelo se têm realizado trabalhos que estudam estes produtos em

termos de qualidade higio sanitária. Estes últimos são de extrema importância em termos de saúde pública, é importante perceber a forma como os vegetais funcionam como veículo de doenças de origem alimentar. Para além da microbiota ambiental presente nos produtos vegetais, ocorre também contaminação durante o processamento. Deste modo, torna-se importante perceber como se realiza o processamento destes produtos e de que forma os mesmos poderão ser contaminados durante as diferentes etapas, tal como conhecer as medidas a tomar para que o mesmo seja evitado ou minimizado ao máximo.

1.3 Processamento dos produtos IV Gama

Em teoria, todos os vegetais são suscetíveis a degradação por microrganismos, numa proporção que dependerá da conjugação dos fatores intrínsecos e extrínsecos (ICMSF, 2005). Quando comparados com os produtos de origem animal, são menos suscetíveis ao crescimento de patogénicos, pois a sua estrutura celular, quando intacta, atua como barreira de proteção (ICMSF, 2005). Quando a integridade celular desaparece, quer por envelhecimento dos tecidos, quer por danos mecânicos provocados pelo processamento, a suscetibilidade de contaminação por patogénicos aumenta (ICMSF, 2005). O tipo de produto vegetal, as práticas de cultivo e as condições de higiene durante a produção e manipulação, a temperatura de armazenagem, entre outros fatores, influenciarão o tipo de microrganismos e o seu nível de contaminação (Smanioto, et al., 2009).

Para além dos fatores inerentes ao processamento tecnológico, deverá ter-se em atenção a aplicação de Boas Práticas Agrícolas (BPA), uma vez que a microbiota inicial é fortemente influenciada pelas práticas agrícolas durante a pré-colheita (ICMSF, 2005). A qualidade inicial dos produtos, em termos microbiológicos, está dependente da qualidade dos solos de cultivo, do fertilizante utilizado, da qualidade das águas de irrigação e dos trabalhadores dos campos de cultivo (ICMSF, 2005).

O solo a cultivar deverá ser avaliado conforme a sua utilização anterior, evitando usar terrenos de pastagem para cultivo de produtos a consumir crus (ICMSF, 2005). Deverá ser restringido o acesso por animais aos campos de cultivo, e devem ser evitadas as contaminações do solo por águas contaminadas, eliminando assim as pastagens que existam em terrenos acima dos terrenos de cultivo (ICMSF, 2005).

No que concerne o fertilizante a utilizar, no caso de se utilizarem adubos e produtos de compostagem, deve-se garantir a eliminação dos patogénicos antes da sua utilização nas culturas. O uso deste tipo de produtos é problemático uma vez que os patogénicos poderão sobreviver no adubo e em lamas ativadas durante meses (Jongen, 2005). Jiang *et al* (2001) reportaram que a *Escherichia coli* O157:H7 sobrevive até seis meses a 15 ou 21°C quando se mistura o adubo contaminado com solo. *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* Enteritidis inoculadas a 10^7 ufc/g de adubo não sobreviveram 72 e 48 horas, respetivamente, quando compostadas a 45°C, não se tendo observada, contudo, qualquer alteração na população quando mantidas à temperatura ambiente (ICMSF, 2005).

A água usada na irrigação das culturas deverá ser avaliada quanto à presença de microrganismos. As águas superficiais têm um maior potencial de contaminação que as águas de poço (ICMSF, 2005). A irrigação por aspersão dispersa a contaminação através dos aerossóis formados, ao passo que a irrigação por gota reduz o potencial de contaminação (ICMSF, 2005).

Os trabalhadores dos campos de cultivo deverão ter formação adequada, revelando-se esta essencial na minimização do potencial de contaminação das culturas (ICMSF, 2005). É necessária a construção de instalações sanitárias adequadas, que deverão ser mantidas em áreas que não provoquem, indiretamente, a contaminação das culturas (ICMSF, 2005).

A contaminação dos produtos poderá ser incrementada durante as diferentes etapas do processamento dos produtos. O processamento deste tipo de produtos depende do vegetal a processar e do produto final pretendido. Conforme o intervalo de tempo que decorre da preparação ao consumo, os procedimentos a aplicar serão mais ou menos elaborados (Lamikanra, 2002). O processamento dos produtos poderá ser subdividido nas 17 etapas abaixo descritas:

1. Colheita

O momento da colheita é ditado pelo grau de maturação do produto a colher sendo este determinado em termos físicos e químicos. Em termos de determinações físicas é avaliada a textura e a cor do produto sendo que o produto deverá apresentar cascas lisas de cor homogénea sem manchas (Smaniotto, et al., 2009); nas determinações químicas são determinados os teores de sólidos solúveis e de açúcares, a acidez do produto, entre

outras. A colheita deveria ser efetuada, preferencialmente, de forma manual, pois provoca menos danos ao produto quando comparada com a colheita mecânica. Contudo, devido à crescente procura destes produtos, houve um consequente aumento da produção, tendo-se passado a usar, mais frequentemente, a colheita mecânica, mais rápida que a manual. A colheita deverá ser feita diariamente e nas horas de menor calor (Martins & Empis, s.d.). Os vegetais deverão ser limpos do excesso de terra, logo após a colheita, como forma de redução da carga microbiana naturalmente presente (Martins & Empis, s.d.). Após este processo, os vegetais deverão sofrer um pré-arrefecimento de modo a abrandar o metabolismo dos produtos (Martins & Empis, s.d.), mantendo assim a turgescência dos tecidos e minimizando as perdas vitamínicas (Martins & Empis, s.d.), controlando de forma indireta o desenvolvimento microbiano (ICMSF, 2005).

2. Transporte

O transporte dos produtos deverá ser feito num espaço de tempo o mais curto possível, e sempre sob temperaturas de refrigeração (Martins & Empis, s.d.). Durante o transporte, e tendo em conta que diferentes tipos de vegetais requerem diferentes tipos de temperatura (Martins & Empis, s.d.), os vegetais deverão ser transportados conforme as suas compatibilidades de temperatura (Martins & Empis, s.d.).

3. Receção

Aquando a receção os produtos deverão ser sujeitos a controlo de qualidade que devem passar pelo grau de maturação, a homogeneidade do lote (importante para as operações subsequentes), o calibre e o aspeto geral (Martins & Empis, s.d.).

4. Pré-arrefecimento

Caso os produtos não tenham sido sujeitos a pré-arrefecimento na pós-colheita, este processo deverá ser realizado logo após a receção do produto (Martins & Empis, s.d.). Este arrefecimento evita a exsudação do produto, aquando o corte, limitando o desenvolvimento microbiano (Pinheiro, et al., 2005).

5. Escolha

Nesta etapa são retirados todos os materiais estranhos, como outros vegetais e materiais não vegetais, e os que denotem uma qualidade deficiente (Martins & Empis, s.d.).

6. Calibração

Os calibres poderão ser tanto os exigidos em termos legais como os mais adequados ao processamento tecnológico (Martins & Empis, s.d.).

7. Primeira lavagem

Nesta etapa, os produtos deverão ser lavados com água potável de modo a retirar os detritos que venham aderidos aos produtos vegetais (Martins & Empis, s.d.).

8. Preparação

Nesta etapa são requeridos equipamentos especializados, variando conforme a matéria-prima e do produto final pretendido (Martins & Empis, s.d.). Esta operação pode ser subdividida em duas operações unitárias: operações de separação, que visam a limpeza e a seleção dos materiais – podem ser do tipo sólido-sólido, sólido-líquido, sólido-gás; operações de redução de dimensões, em que se preparam as matérias-primas para os processos subsequentes (Martins & Empis, s.d.). As operações de redução de dimensões implicam o corte, a raspagem e a ripagem dos vegetais, o que consequentemente implica com a atividade enzimática, a atividade respiratória e de transpiração, na produção de etileno e na atividade microbiana (Smanioto, et al., 2009) (Beirão-da-Costa, et al., 2014). Em termos de atividade microbiana esta aumenta como consequência do aumento de superfície de contacto e pelo aumento do exsudado dos tecidos, que proporciona condições adequadas ao desenvolvimento microbiano (Smanioto, et al., 2009). Este processamento implica também a exsudação de enzimas pectinolíticas, a partir dos tecidos danificados, para o interior dos tecidos mais interiores, resultando numa perda significativa de textura (Beirão-da-Costa, et al., 2014).

9. Lavagem

A lavagem visa retirar os materiais estranhos aderidos às matérias-primas, eliminando também os resíduos de pesticidas. A lavagem é feita por imersão em água, seguida de escovagem e terminando com jatos de água (Martins & Empis, s.d.). A qualidade da água utilizada deverá ser garantida ao longo de todo o processo, uma vez que é o fator chave para a eficiência das etapas de lavagem e desinfecção, uma vez que estes são,

muitas das vezes, os únicos processos de conservação dos produtos IV Gama (Martins & Empis, s.d.).

10. Desinfecção

Após a lavagem os produtos são desinfetados. O desinfetante mais comumente utilizado é o cloro, que poderá ser fornecido como cloro líquido, hipocloritos e dióxido de cloro. A eficácia da desinfecção com água clorada está dependente da quantidade de água utilizada (5 a 10 L/Kg), da temperatura da água (próxima dos 4°C para arrefecimento do produto), da concentração do cloro ativo (100mg/L), com o tempo de contacto e com o pH do meio (Dris & Jain, 2004). Contudo, e devido aos fatores condicionantes, a eficácia desta metodologia é baixa (Beirão-da-Costa, et al., 2014). Para além de que o cloro poderá revelar-se perigoso pela formação de produtos clorados cancerígenos, tais como os trihalometanos e cloraminas (Beirão-da-Costa, et al., 2014). Poderão ser utilizados outros métodos de descontaminação, nomeadamente a γ -irradiação, a irradiação por feixe de eletrões, químicos como o lactato de sódio, o ácido cítrico, o cloreto de sódio acidificado, e o ozono (Chun, et al., 2010). Contudo, também estas metodologias de desinfecção poderão alterar os vegetais em termos de textura e composição nutricional (Chun, et al., 2010).

11. Escorrimento e centrifugação

Após as operações de lavagem e desinfecção, o produto deverá ser escorrido e centrifugada para que se retire o excesso de água presente no produto. Este processo é tanto mais eficaz quanto maior a quantidade de água retirada e quanto menores os danos provocados aos produtos (Martins & Empis, s.d.). A centrifugação dos vegetais folhosos é mais complicada por se tratar de materiais mais delicados, e logo mais sujeitos a danos físicos, podendo por isso ser substituída pelo simples escorrimento (Martins & Empis, s.d.).

No seguimento destas etapas de processamento, os materiais são pesados e embalados, para em seguida serem armazenados antes da expedição. Uma vez que não existe nenhum tratamento posterior ao embalamento, a embalagem deverá atender a critérios de qualidade e de segurança (Beirão-da-Costa, et al., 2014). Durante o armazenamento, os produtos são devidamente acondicionados e mantidos em câmaras de refrigeração a 4°C (Martins & Empis, s.d.). O produto deverá ser expedido o mais rapidamente

possível, e enquanto tal não acontece a temperatura deverá ser controlada de forma rigorosa (Martins & Empis, s.d.). Aquando a expedição, esta etapa deverá ser realizada também sob temperaturas de refrigeração (Martins & Empis, s.d.) de modo a garantir que se mantenham a qualidade do produto, tanto a nível microbiológico como organolético.

Existem riscos inerentes às diferentes etapas do produto e às quais se deverá prestar especial atenção, riscos esses que podem ser diminuídos pela correta aplicação de Boas Práticas de Fabrico (BPF) (Smaniotto, et al., 2009). A implementação de um sistema de gestão de segurança alimentar, como o HACCP, permitirá o controlo da higiene e da qualidade dos produtos (Smaniotto, et al., 2009). Ao nível da produção vegetal, os riscos são de carácter químico, físico e microbiológico.

Tabela 2 - Pontos críticos associados a risco microbiológico adaptado de (Martins & Empis, s.d.) de Les Éditions du Journal Officiel, 1996.

ETAPA	RISCO
Produção	Presença de parasitas
Armazenagem após a receção	Contaminação microbiana por contacto, crescimento da população microbiana, devido a temperaturas excessivas.
Redução de dimensões	Contaminação microbiana por contacto.
Lavagem e desinfeção	Contagem microbiana excessiva após a operação.
Centrifugação	Aquecimento do produto, com consequente aumento do desenvolvimento microbiano.
Mistura	Recontaminação durante a operação.
Pesagem	Recontaminação durante a operação.
Embalamento	Desenvolvimento microbiano, por temperatura excessiva ou embalagem mal fechada.
Armazenamento, expedição e transporte	Más condições de conservação – temperatura excessiva.

1.4 Contaminação dos produtos vegetais e surtos associados

O interior dos tecidos vegetais é estéril, com exceção dos tecidos porosos, como rabanetes e cebolas, e vegetais folhosos, como couves e couves de Bruxelas. Algumas plantas produzem metabolitos antimicrobianos que limitam a presença de microrganismos (Ray & Bhunia, 2013). A carga microbiana presente na superfície das frutas e vegetais está diretamente relacionada com as condições do solo, do tipo de fertilizante utilizado, da qualidade da água e da qualidade do ar (Ray & Bhunia, 2013). Neste tipo de produtos é esperada a presença de fungos, bactérias ácido-lácticas, e bactérias dos géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Erwinia*, *Bacillus*, *Clostridium* e *Enterobacter* (Ray & Bhunia, 2013). Aquando a contaminação do solo por água não tratada, é possível a presença de agentes patogénicos, especialmente de origem entérica (Ray & Bhunia, 2013).

Os processos patológicos de natureza microbiana associados a vegetais, os danos na superfície dos tecidos, uma longa demora entre a colheita e a lavagem do produto, e deficientes condições de armazenamento e de transporte após a colheita e antes do

processamento, poderão aumentar consideravelmente a quantidade e a variedade de carga microbiana (Ray & Bhunia, 2013). Por outro lado, deficientes condições de armazenamento após o processamento poderão também levar ao aumento da carga microbiana (Ray & Bhunia, 2013). Para que consiga obter uma reduzida contaminação inicial destes produtos dever-se-ão utilizar metodologias apropriadas, quer durante o seu desenvolvimento, – utilização de água tratada, utilização de fertilizantes apropriados – durante a colheita – redução dos danos causados nos tecidos – rápida lavagem com água de qualidade para remoção do solo e sujidade, armazenamento a uma baixa temperatura, antes e depois do processamento.

Os microrganismos crescem melhor e mais rapidamente em vegetais cujos cuja epiderme tenha sofrido soluções de integridade (Ray & Bhunia, 2013). A presença de ar, a humidade elevada, e uma elevada temperatura durante a armazenagem, aumentam a taxa de degradação deste tipo de produtos (Ray & Bhunia, 2013). A degradação destes produtos destes produtos deve-se a diferentes tipos de bolores como os do género *Penicillium*, *Phytophthora*, *Alternaria*, *Botrytis* e *Aspergillus*, e a bactérias dos géneros *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Bacillus* e *Clostridium* (Ray & Bhunia, 2013). Para além da alteração da cor dos vegetais, a degradação microbiana provoca alterações a nível do odor e da textura (Ray & Bhunia, 2013). Estas alterações são mais perceptíveis em produtos IV Gama, como saladas cortadas e vegetais laminados, refrigerados durante largos períodos de tempo e muitas vezes sujeitos a temperaturas abusivas (Ray & Bhunia, 2013). De forma a diminuir a degradação microbiana nos vegetais é utilizada a refrigeração, o vácuo ou a atmosfera modificada, a congelação, a secagem, o tratamento térmico, e os conservantes químicos (Ray & Bhunia, 2013).

Os produtos vegetais poderão ser veículo de agentes patogénicos de contaminação humana, resultado da contaminação fecal dos produtos por diferentes fatores e em diferentes etapas do processamento destes produtos – deficientes redes de esgotos; fertilizantes de origem animal (Wachtel, et al., 2002); uso de águas contaminadas (irrigação, arrefecimento e / ou lavagem); uso de gelo contaminado no transporte; ou más práticas de higiene durante a manipulação.

Os principais vetores de contaminação ambiental são o solo e a água, tendo as bactérias e os vírus presentes em ambos muito em comum (Jay, 2000). Os microrganismos presentes no solo, poderão entrar em contacto com a atmosfera por ação do vento e

assim penetrar os lençóis de água, através das chuvas (Jay, 2000). Os lençóis de água poderão também ser contaminados diretamente pelos solos através das chuvas (Jay, 2000). Os microrganismos aquáticos poderão ser depositados no solo através da formação de nuvens e consequentes chuvas (Jay, 2000). Estes ciclos em comum fazem com que os microrganismos telúricos e aquáticos sejam os mesmos a um nível elevado (Jay, 2000). Contudo, alguns microrganismos aquáticos não têm capacidade para sobreviver nos solos, principalmente os característicos de águas marítimas (Jay, 2000). Posto isto, poder-se-ia assumir que a maioria dos microrganismos presentes no solo e na água contamina os vegetais, no entanto, apenas alguns destes têm a capacidade para se desenvolverem nos vegetais (Jay, 2000). Os microrganismos que persistem nos vegetais fazem-no porque veem os seus requisitos nutricionais preenchidos e pela sua capacidade de aderência nos tecidos vegetais, o que dificulta a sua remoção através da lavagem (Jay, 2000). Entre estes destacam-se as bactérias ácido lácticas e algumas leveduras (Jay, 2000)

A degradação dos vegetais é maioritariamente causada por fungos, principalmente *Penicillium*, *Sclerotinia*, *Botrytis* e *Rizopus* (Ray & Bhunia, 2013). Por outro lado, a degradação das folhas é provocada por bactérias como *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas marginalis* e *Erwinia carotovora*, e por bolores como *Sclerotinia spp* ou *Botrytis cinerea* (Ray & Bhunia, 2013). As bactérias ácido lácticas, apesar de se encontrarem em número mais reduzido, quando em comparação com os restantes microrganismos, representam o papel importante na degradação ocorrida após o processamento, e na fermentação dos vegetais por processos naturais (Ray & Bhunia, 2013). Os vegetais frescos poderão ser contaminados por patogénicos que ocorrem naturalmente no solo como *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Clostridium botulinum*. Caso se utilizem resíduos animais ou águas contaminadas na irrigação e na fertilização, poder-se-á estar a contribuir para a contaminação por agentes de origem fecal, tais como os etiológicos de hepatite, febre tifóide, shigelose, salmonelose, listeriose, gastroenterite viral, cólera, amoebiose, giardiose, e outros agentes entéricos tal como parasitas (Ray & Bhunia, 2013). Contudo, as culturas de raízes e de baixo crescimento da folha e do talo são mais facilmente contaminados pela utilização de efluentes de esgotos ou pelo uso de água contaminada para irrigação (Ray & Bhunia, 2013).

Tal como já fora referido, nos últimos anos tem havido um aumento no consumo de produtos IV Gama. Consequentemente, o número de surtos associados a este tipo de produtos, tem também aumentado (Valentin-Bon, et al., 2008) (Chun, et al., 2010).

Tabela 3 - Surtos associados ao consumo de produtos vegetais.

Ano	País	Produto	Agente patogénico	Número de casos	Fonte
2012	Alemanha	Morangos	Norovirus	11000	Safe Food International
2012	Reino Unido e Alemanha	Melancia	<i>Salmonella</i> Newport	51	Safe Food International
2011	Dinamarca	Tomate	<i>Salmonella</i> Strathcona	40	Safe Food International
2011	Noruega	Basilico	<i>Shigella</i>	46	Safe Food International
2011	Noruega	Alface	<i>Yersinia enterocolitica</i>	20	Safe Food International
2010	Dinamarca	Alface	Norovirus e <i>E. coli enterotoxigénica</i>	260	Safe Food International
2009	Finlândia	Mistura de salada	<i>Cryptosporidium parvum</i>	72	Safe Food International
2012	Estados Unidos da América	Manga	<i>Salmonella</i> Braenderup	33	Outbreak Alert - Food safety
2012	Estados Unidos da América	Alface romana	<i>E. coli</i> O157:H7	28	Outbreak Alert - Food safety
2012	Estados Unidos da América	Melão	<i>Salmonella</i> Typhimurium	240	Outbreak Alert - Food safety
2011	Estados Unidos da América	Melão	<i>Listeria monocytogenes</i>	146	Outbreak Alert - Food safety
2011	Estados Unidos da América	Papaia	<i>Salmonella</i> Agona	106	Outbreak Alert - Food safety
2011	Estados Unidos da América	Melões	<i>Salmonella</i> Panama	20	Outbreak Alert - Food safety
2010	Estados Unidos da América	Alface romana	<i>E. coli</i> O145	26	Outbreak Alert - Food safety
2008	Estados Unidos da América	Tomate	<i>Salmonella</i> Saintpaul	1442	Outbreak Alert - Food safety

1.5 Microbiologia preditiva

A Microbiologia Preditiva é um campo de estudo em que se combinam elementos da Microbiologia, Matemática e Estatística, para desenvolvimento de modelos capazes de prever a multiplicação, sobrevivência ou declínio dos microrganismos, de degradação ou patogénicos, bem como a produção de metabolitos, tais como toxinas, sob condições ambientais específicas (Whiting, 1995). Assim, os modelos microbiológicos consistem em expressões matemáticas que descrevem a evolução de uma população de microrganismos em determinado género alimentício ou sistema, em função de variáveis extrínsecas e intrínsecas (Marks, 2008).

A modelação microbiológica teve início na década de 20, do século XX, com o cálculo do tempo de inativação microbiológica por tratamento térmico (Whiting, 1995). Com o aparecimento dos computadores pessoais, a modelação microbiológica tornou-se uma área de interesse crescente, uma vez que passou a estar ao fácil alcance da tecnologia alimentar e dos microbiologistas (Whiting, 1995). Até então, apenas se tinham desenvolvido modelos simples, uma vez que o esforço necessário à criação de modelos multifacetados não seria justificado pelo uso limitado que teriam (Whiting, 1995). Os modelos microbiológicos poderão ser classificados, quanto às variáveis que utilizam, em três níveis: primários, secundários ou terciários (Whiting, 1995).

Os modelos primários descrevem a evolução do número de microrganismos no tempo sob condições específicas (Marks, 2008). Estes modelos poderão quantificar as

unidades formadoras de colónia por mililitro (ufc/mL), a formação de toxina, os níveis de substrato, os produtos metabólicos – medidas diretas da resposta – ou a absorvância ou a impedância – medidas indiretas da resposta. As alterações da resposta no tempo são descritas por funções matemáticas com um conjunto de valores de parâmetros característico (Whiting, 1995). A taxa de crescimento exponencial, também conhecida como curva de Gompertz, e a inativação térmica de primeira ordem, são exemplos de modelos primários. Os parâmetros poderão no entanto ser reformulados em parâmetros derivados, como o tempo lag de Gompertz e o tempo de geração (Whiting, 1995).

Nos modelos secundários relacionam-se os parâmetros dos modelos primários com as variáveis ambientais, como a temperatura e o pH (Marks, 2008). A equação de Arrhenius e os modelos de raiz quadrada, são alguns dos exemplos de modelos secundários (Whiting, 1995). Tanto os modelos primários como os secundários podem ser caracterizados como lineares ou não lineares, segregados (uma população definida de células heterogéneas) ou não segregados (média de células), estruturado (vários componentes) ou não estruturados (um único componente) (Whiting, 1995). Estes modelos poderão ainda ser descritos como empíricos ou baseados em critérios microbiológicos (Whiting, 1995).

Os modelos terciários transformam os modelos primários e secundários em programas de fácil utilização por parte dos utilizadores, sob a forma de *software* de aplicação (Whiting, 1995). Estes programas poderão calcular as respostas microbianas conforme as alterações das condições, comparar o efeito das diferentes condições, ou contrastar o comportamento de vários microrganismos (Whiting, 1995). São exemplos de modelos terciários o *AMI Process Lethality Spread Sheet*, o *Pathogen Modelling Program*[®] e o *ComBase*[®] (Marks, 2008).

Para além da diferenciação por níveis, os modelos microbiológicos poderão ser classificados como de crescimento, inativação, sobrevivência ou combinados (Marks, 2008). Os modelos de crescimento descrevem a evolução quantitativa da população microbiana ao longo do tempo, enquanto os modelos de inativação descrevem o decréscimo da população microbiana ao longo do tempo, resultado de qualquer tratamento letal aplicado (aquecimento ou radiação) (Whiting, 1995).

De modo geral, os modelos de crescimento ou de inativação são derivados de estudos realizados em meios de propagação com fatores controlados, tais como o pH, concentração de sal, e temperatura (Whiting, 1995). Em termos de validação dos modelos, após a recolha de diversas curvas e do cálculo dos modelos primários e

secundários, é importante testar a precisão do modelo com novos dados e com novas combinações dos fatores acima referidos. Permitindo assim estimar o ajuste dos dados e que outros dados poderão ser necessários (Whiting, 1995). Modelos mais parametrizados ou dotados de um nível de complexidade superior ajustam melhor um conjunto de dados, quando comparados a um modelo mais simples. Contudo, poderão não ser melhores que modelos mais simples quando testados com um novo conjunto de dados (Whiting, 1995). A segunda fase de validação consiste em comparar as previsões com o real comportamento dos microrganismos na matriz alimentar. Isto demonstra a limitação dos modelos e, quando um produto não é devidamente descrito, sugere quais os fatores que precisam de ser adicionados ao modelo de modo a aumentar a sua aplicabilidade. Caso não se realize esta validação, os modelos não poderão ser utilizados com a confiança necessária na previsão em alimentos (Whiting, 1995). Os erros no crescimento estimado deverão tender para uma taxa superior àquela observada nos alimentos, de modo a se fazerem previsões cautelosas ou do género “seguro-não seguro” (Whiting, 1995). Posto isto, aquando da escolha de um modelo, dever-se-á ter em conta a qualidade do conhecimento que se tem do sistema, e da qualidade e quantidade de dados disponíveis sobre o sistema (Marks, 2008).

Autores como McMeekin (2008) entendem que, combinando a microbiologia preditiva com monitorizações tecnológicas, poder-se-ão estimar tempos de prateleira e / ou a segurança microbiológica de determinado produto, sem o recurso às tradicionais técnicas de enumeração microbiológica. Não esquecendo, porém, o importante papel da microbiologia clássica, tanto nos avanços feitos até então, em termos de microbiologia preditiva, como no desenvolvimento e validação de novos modelos preditivos (McMeekin, 2007). No entanto, a utilização dos modelos de microbiologia preditiva é limitada por diversos fatores como: a disponibilidade dos dados; as metodologias aplicadas; a variabilidade e incerteza dos dados; a variabilidade da matriz alimentar; e pela dificuldade de integração destes modelos em modelos de processamento (Marks, 2008).

Os modelos matemáticos são compostos por um conjunto de pressupostos, alguns dos quais formulados por equações diferenciais. Em Biologia, o sistema real é complexo, pois a matriz alimentar é caracterizada por uma multiplicidade de fatores que a tornam variável. Logo, os modelos a utilizar deverão incluir idealizações simplificadas, tendo por hipótese base a determinação da cinética celular por três classes de variáveis (Baranyi & Roberts, 1995):

- As condições intracelulares que definem o estado instantâneo celular. Assume-se que este estado possa ser medido pela concentração de determinadas substâncias bioquímicas como a biomassa, enzimas, ADN e ARN. A concentração por célula, destas substâncias, é denominada por $z(t)$, também conhecido como vetor do estado interno ou fisiológico.
- As condições extracelulares alteradas pelo metabolismo bacteriano. Estas estão relacionadas com o vetor $c(t)$, denominado como vetor de estado externo de categoria 1.
- As condições extracelulares independentes do crescimento bacteriano. O vetor variável correspondente é $D(t)$, denominado por vetor de estado externo de categoria 2. Este vetor varia com o tempo, ou seja, depende do tempo.

Posto isto, os modelos matemáticos são realizados a partir de várias hipóteses simplificadas. Assume-se a homogeneidade da população bacteriana, excluindo-se uma possível distribuição das células pelo espaço, tal como se menospreza a variedade biológica do sistema, ou seja, não se considera a hipótese que $z(t)$ possa apresentar uma distribuição própria. Estas desconsiderações equivalem a que se assumam estas entradas de valor, referentes ao vetor fisiológico, como médias no espaço físico e probabilístico. Na equação que descreve a hipótese base da cinética do sistema, considera-se que as funções que a compõem dependem da variável $D(t)$ (por exemplo, da temperatura externa), considerando-se o sistema autónomo quando esta é constante.

Para o trabalho desenvolvido, utilizou-se o modelo terciário *Combase Predictor*. O *ComBase*® é uma base de dados internacional de taxas de crescimento ou de morte microbianas, formada a partir da agregação dos dados recolhidos do *Pathogen Modeling Program* e do *Growth Predictor* (antigo *Food MicroModel*) (Marks, 2008) (Baranyi & Tamplin, 2004), em 1988, tendo mais tarde agregado dados recolhidos por outros programas europeus de segurança alimentar (Baranyi & Tamplin, 2004). Em Junho de 2003 é lançada a versão para Internet do *ComBase*®. Esta base de dados tem-se vindo a expandir desde a sua criação, apresentando atualmente mais de 50.000 registos (Baranyi & Tamplin, 2004). Os modelos preditivos do *ComBase*® consistem na compilação de ferramentas informáticas, baseadas nos dados do *ComBase*®, com vista à previsão da multiplicação ou inativação da população de microrganismos (Baranyi & Tamplin, 2004). Os modelos atualmente disponibilizados pelo *ComBase*® são, o *ComBase*

Predictor e o *Perfringens Predictor*. O primeiro consiste num conjunto de 23 modelos de crescimento e de 6 modelos de inativação térmica, em que se preveem as respostas de importantes microrganismos patogénicos ou de degradação alimentar conforme os fatores ambientais (Baranyi & Tamplin, 2004). O *Perfringens Predictor*, é uma aplicação especialmente concebida para a previsão da multiplicação de *Clostridium perfringens* durante o arrefecimento de carnes (Baranyi & Tamplin, 2004).

O *ComBase Predictor* permite ao utilizador prever a multiplicação de determinados microrganismos tendo em conta os níveis de contaminação inicial, as alterações de temperatura, os valores de pH, a percentagem de NaCl ou o valor de aW. No trabalho desenvolvido realizou-se a previsão de curvas de crescimento para *Pseudomonas spp.* e para *Aeromonas hydrophila*. Em paralelo, realizou-se a enumeração destes microrganismos pela metodologia clássica, de modo a perceber se existe qualquer correlação entre os resultados.

2. Objetivos

No trabalho a ser desenvolvido não se pretende traçar um perfil quanto aos agentes patogénicos presentes no produto. O intuito do trabalho é perceber de que forma o produto evolui, em termos microbiológicos, da produção até fim do tempo de vida útil, tendo em conta os fatores intrínsecos ao produto, nomeadamente os valores de pH e aW, e os fatores extrínsecos, nomeadamente a temperatura a que o produto esteve sujeito durante a cadeia de distribuição. Com estes dados é-nos ainda possível utilizar a Microbiologia preditiva, de modo a tentar perceber até que ponto este tipo de programas poderá ser uma ferramenta útil à indústria e aos agentes económicos associados aos produtos IV Gama. Para este trabalho foi utilizado o *Combase®* como *software* de Microbiologia preditiva. Este *software* foi escolhido pela sua fácil acessibilidade e aplicação.

Desta forma, as perguntas de partida para o trabalho a desenvolver são:

- 1) Um produto IV Gama, de origem vegetal, mantém a sua qualidade a nível microbiológico findo o seu tempo de vida útil?
- 2) Poderá a Microbiologia Preditiva ser útil e vantajosa para definir máximos de vida útil do produto, quando comparada com a metodologia clássica da Microbiologia Alimentar?

Tendo em conta as perguntas de partida apresentadas, os objetivos do trabalho são:

- Acompanhar o desenvolvimento microbiológico dos produtos vegetais IV Gama da produção ao fim do tempo de vida útil;
- Analisar, através da Microbiologia Preditiva a forma como, matematicamente, os produtos evoluem em termos de qualidade microbiológica, em termos dos teores de *Pseudomonas spp.* e *Aeromonas hydrophila*;
- Comparar os resultados da microbiologia clássica com os da microbiologia preditiva.

3. Metodologia

3.1 Amostragem

Para a realização deste estudo, contactaram-se duas empresas produtoras de produtos IV Gama. Dos produtos destas empresas seleccionaram-se uma salada de alface, tomate laminado e fruta laminada, pois correspondem a diferentes tipos de produtos IV Gama. A salada Iceberg, pela sua maior resistência ao frio e às ações de degradação, quando comparada com outros tipos de alface, o tomate laminado pelo seu elevado índice de exsudação e manga por ter características físico-químicas distintas dos anteriores.

De cada lote seleccionaram-se cinco amostras, em que uma delas era analisada no dia da produção (amostra inicial – AI) e as outras quatro findo o período normal de utilização (amostra final – AF), até quatro a cinco dias após a produção, conforme a data de validade indicada no produto. As amostras finais, antes de serem recolhidas, eram expedidas para unidades de restauração onde ficavam armazenadas até término do seu prazo de validade. De forma a serem representativas do ciclo real deste tipo de produtos, estas amostras eram armazenadas do mesmo modo que outro produto similar a ser utilizado pelas unidades. As amostras foram todas recolhidas na sua embalagem original e colocadas de imediato numa mala térmica, para que se pudesse então proceder ao transporte para o laboratório. Após a entrada nas amostras no laboratório, estas eram colocadas sob refrigeração, sendo analisadas, no máximo, até uma hora depois da sua entrada.

Cada uma das amostras, denominadas como finais, era acompanhada por um registador de temperatura, vulgarmente conhecido por data logger, que registava as variações de temperatura a que os produtos estavam sujeitos ao longo do tempo. Com isto foi possível obter um perfil de temperatura posteriormente utilizado no *Combase*®.

3.2 Avaliação da qualidade microbiológica – metodologia clássica

Material

- Colheres;
- Copo de plástico para medição de aW;
- Espalhadores descartáveis;
- Gobelé graduado de 100mL;
- Pinças;
- Pipetas graduadas de vidro de 10mL;
- Pipetas graduadas de vidro de 5mL;
- Pipetas graduadas de vidro de 1mL;
- Pontas descartáveis de micropipetas, FINNTIP-1000;
- Sacos de homogeneização;
- Tubos de ensaio.

Meios de cultura

- Água Peptonada Tamponada (20g/L), Biokar, BK131HA;
- Kanamicina Aesculina Azida agar, Oxoid, CM591
- Meio base de Aeromonas (Ryan), Oxoid, CM0833;
- Plate Count agar (PCA), Biokar, BK144HA;
- Pseudomonas agar base, Oxoid, CM559;
- Rose Bengal Chloramphenicol agar, Biokar, BK151HA;
- TBX agar, Biokar, BK146HM;
- Violet Red Bile Lactose (VRBL) agar, Biokar, BK152HA.

Suplementos de meios de cultura

- Ampicilina, Oxoid, SR0136E;
- C-F-C, Oxoid, SR0103E.

Equipamentos

- Agitador, Scientific Industries, Vortex-1 Genie touch mixer;
- Balança Kern 572;
- Banho-maria, Memmert, WB14, regulado a 47°C;
- Bico de bunsen, Gasprofi, 1SCS;
- Data logger Termochron[®]
- Estufa incubadora WTB BINDER, BD/ED/FD, regulada a 37°C;
- Estufa incubadora WTB BINDER, EB, regulada a 25°C;
- Estufa incubadora, Memmert, IPP500, regulada a 25°C;
- Estufa incubadora, Memmert, IPP500, regulada a 30°C;
- Medidor de aW, Hygropalm, Rotronic.
- Picadora doméstica, 1-2-3, Moulinex;;
- Potenciômetro, Eutech Instruments, pH 510;
- Stomacher, Seward, 400 Circulator 88.

3.2.1 Preparação da amostra

Foram pesados 10g de cada uma das amostras em análise, aos quais se adicionaram 90mL de Água Peptonada Tamponada, procedendo-se posteriormente à homogeneização do preparado – Suspensão inicial. A partir da suspensão inicial, foram preparadas as diluições decimais para a realização dos diferentes parâmetros de análise microbiológica.

Os parâmetros microbiológicos realizados para cada uma das amostras foram: Contagens totais a 30°C; Contagem de coliformes totais; pesquisa e contagem de *Escherichia coli*; pesquisa e contagem de *Enterococcus spp.*, pesquisa e contagem de *Pseudomonas spp.*, pesquisa e contagem de *Aeromonas hydrophila*, Bolores e Leveduras.

3.2.2 Contagens totais a 30°C

Realizaram-se sementeiras por incorporação de 1mL de inóculo em meio de PCA, para cada uma das diluições, posteriormente incubadas a 30°C por 72 horas, com observação diária das mesmas.

3.2.3 Pesquisa e contagem de coliformes totais

Foram realizadas sementeiras por incorporação de 1mL de inóculo em meio VRBL, para cada uma das diluições preparadas, incubando-se posteriormente a 37°C durante 24 horas. Após o tempo de incubação, contaram-se todas as colónias que se apresentaram com tom violeta e diâmetro de, aproximadamente, 0,5mm.

3.2.4 Pesquisa e contagem de *Escherichia coli*

Realizaram-se sementeiras por incorporação em meio TBX, para cada uma das diluições previamente preparadas. As placas foram a incubar a 44°C de 18 a 24 horas. Findo o tempo de incubação, eram contabilizadas todas as colónias azuis.

3.2.5 Pesquisa e contagem de *Enterococcus spp.*

A pesquisa e contagem deste microrganismo foram realizadas em meio de Kanamicina aesculina azida agar. Para cada uma das diluições, colocou-se 0,1mL de inóculo numa placa, previamente plaqueada, procedendo-se depois ao espalhamento do inóculo. As placas incubadas a 37°C de 18 a 24 horas. Após a incubação, contaram-se todas as colónias em que, ao seu redor, ocorreu escurecimento do meio de cultura.

3.2.6 Pesquisa e contagem de *Pseudomonas spp.*

Para a pesquisa de *Pseudomonas ssp.*, foram realizadas sementeiras à superfície de 0,2mL de inóculo em meio *Pseudomonas* agar base, suplementado com SR0103, para cada uma das diluições preparadas, posteriormente incubadas a 30°C durante 24 a 48 horas, com controlo diário.

3.2.7 Pesquisa e contagem de *Aeromonas hydrophyla*

Realizaram-se sementeiras por espalhamento em meio de Ryan suplementado com ampicilina, utilizando 0,2mL de inóculo. As placas foram incubadas a 30°C até 72 horas, com controlo diário. Findo o tempo de incubação, contaram-se todas as colónias que se apresentavam com uma tonalidade verde escura e opaca, com centro escurecido.

3.2.8 Pesquisa e contagem de bolores e leveduras

Realizaram-se sementeiras à superfície de 1mL de inóculo distribuído por 5 placas (0.2mL por placa) de Rose Bengal Chloramphenicol agar, incubadas até 120 horas a 22°C. Após o tempo de incubação, as colónias eram contadas de forma distinta, contando os bolores e as leveduras separadamente.

3.3 Avaliação microbiológica – Microbiologia preditiva

3.3.1 Preparação da amostra

Transferiu-se uma porção da embalagem original para uma picadora doméstica e triturou-se a amostra por completo.

3.3.2 Medição de aW e pH

Parte do preparado foi cuidadosamente colocado num copo adequado para a medição de aW, de modo a que todo o copo ficasse preenchido com a amostra, com o mínimo de ar possível. Após esta etapa, a amostra era então sujeita à medição de aW no equipamento adequado para o efeito.

Para a medição do pH, parte das amostras trituradas eram colocadas, individualmente, em gobelés de vidro a partir dos quais se procedeu à medição do pH dos produtos. Os triturados das amostras de manga, antes da medição do pH, foram diluídos em água destilada, numa proporção de para 10, uma vez que a amostra era demasiado fibrosa para que se conseguisse fazer uma correta medição do pH.

3.3.3 Utilização do programa de microbiologia preditiva – *Combase*

O programa de microbiologia preditiva foi utilizado no sentido de tentar prever qual seria a evolução da qualidade microbiológica da amostra inicial para as respectivas amostras finais, de cada produto, em termos de teores de contaminação por *Pseudomonas spp.* e *Aeromonas hydrophila*. Para tal, foram introduzidos no programa, para cada amostra individualmente, os respectivos valores de pH e de aW, os valores das contagens iniciais de *Pseudomonas spp.* e de *Aeromonas hydrophila*, e as curvas de temperatura registadas pelos data loggers durante o tempo de armazenagem.

Após a introdução dos dados, o programa criou curvas de crescimento para cada microrganismo em estudo, tal como uma tabela com os valores, em escala logarítmica, do crescimento bacteriano ao longo do tempo.

3.4 Tratamento dos resultados

Os resultados obtidos foram tratados no programa de estatística *SPSS*[®], em termos de análise quantitativa, descritiva e comparativa, e em *Excel* para a análise quantitativa e comparativa de alguns dos resultados obtidos.

4. Apresentação de resultados

4.1 Tabelas resumo dos resultados obtidos – metodologia clássica

Apresentam-se as tabelas que resumem, em termos estatísticos, os resultados microbiológicos obtidos pela metodologia clássica. As tabelas 4 e 5 apresentam as medidas estatísticas da amostra, sendo que na Tabela 1 são apresentadas por parâmetro microbiológico e produto e, na Tabela 2, apenas por parâmetro microbiológico. Nas tabelas 6 e 7 constam as medidas estatísticas da amostra, dividida em AI e AF, em que na Tabela 6 se apresentam por parâmetro microbiológico e produto e, na Tabela 7, apenas por produto.

Tabela 4 - Medidas estatísticas da amostra por parâmetro microbiológico e produto.

		Cont. totais	Coliformes totais	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Bolores	Leveduras
MANGA	N	11	11	11	11	11	11	11
	Média	6,09	3,49	1,05	5,20	4,69	1,04	3,91
	Mediana	6,20	3,41	1,00	5,51	5,00	1,00	3,17
	Desvio padrão	0,98	1,79	0,18	0,89	0,76	0,12	1,26
	Mínimo	4,08	1,00	1,00	3,20	3,45	1,00	1,70
	Máximo	7,86	6,00	1,60	6,46	5,82	1,40	5,82
	Percentil 25	5,41	1,48	1,00	4,56	3,81	1,00	3,17
	Percentil 50	6,20	3,41	1,00	5,51	5,00	1,00	3,17
	Percentil 75	6,65	5,30	1,00	5,76	5,08	1,00	4,91
SALADA ICEBERG	N	17	17	17	17	17	17	17
	Média	5,92	4,42	1,91	5,25	3,93	1,07	3,61
	Mediana	6,08	4,30	1,00	5,36	3,96	1,00	3,91
	Desvio padrão	1,26	1,32	1,47	1,00	1,01	0,17	1,00
	Mínimo	3,62	2,38	1,00	3,30	1,00	1,00	2,00
	Máximo	7,96	6,28	5,36	7,80	5,81	1,60	5,57
	Percentil 25	4,92	3,37	1,00	4,68	3,46	1,00	2,66
	Percentil 50	6,08	4,30	1,00	5,36	3,96	1,00	3,91
	Percentil 75	7,17	5,56	2,74	5,80	4,40	1,00	4,32
TOMATE LAMINADO	N	12	12	12	12	12	12	12
	Média	5,43	2,13	2,00	3,83	2,35	1,23	3,71
	Mediana	5,40	1,59	2,24	3,97	1,77	1,00	3,81
	Desvio padrão	2,08	1,44	0,93	1,60	1,54	0,55	1,07
	Mínimo	2,34	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,78
	Máximo	8,76	4,87	3,28	5,76	4,70	2,70	5,20
	Percentil 25	3,29	1,00	1,00	3,05	1,00	1,00	2,84
	Percentil 50	5,40	1,59	2,24	3,97	1,77	1,00	3,81
	Percentil 75	7,62	3,35	2,76	5,03	4,05	1,00	4,75

Tabela 5 - - Medidas estatísticas da amostra por parâmetro microbiológico.

	Cont. totais	Coliformes totais	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Bolores	Leveduras
N	40	40	40	40	40	40	40
Média	5,82	3,47	1,70	4,81	3,66	1,11	3,72
Mediana	6,12	3,47	1,00	5,04	3,95	1,00	3,83
Moda	4,90	1,00	1,00	5,62	1,00	1,00	3,17
Desvio padrão	1,56	1,75	1,14	1,33	1,45	0,33	1,07
Mínimo	2,34	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,70
Máximo	8,76	6,28	5,36	7,79	5,82	2,70	5,82
Percentil 25	4,90	1,75	1,00	4,20	3,11	1,00	3,00
Percentil 50	6,12	3,47	1,00	5,04	3,95	1,00	3,82
Percentil 75	6,88	5,10	2,44	5,70	4,85	1,00	4,43

Tabela 6 - - Medidas estatísticas das AI e AF por parâmetro microbiológico e produto.

Produto		Cont. totais		Coliformes totais		<i>Enterococcus spp.</i>		<i>Pseudomonas spp.</i>		<i>Aeromonas hydrophila</i>		Bolores		Leveduras	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
MANGA	N	2	9	2	9	2	9	2	9	2	9	2	9	2	9
	Média	5,12	6,31	3,45	3,49	1,30	1,00	4,54	5,35	5,04	4,61	1,20	1,00	2,44	4,23
	Mediana	5,12	6,32	3,45	3,41	1,30	1,00	4,54	5,51	5,04	5,00	1,20	1,00	2,44	4,43
	Desvio padrão	1,46	0,80	3,46	1,59	0,42	0,00	1,90	0,63	0,06	0,83	0,28	0,00	1,04	1,08
	Mínimo	4,08	5,20	1,00	1,00	1,00	1,00	3,20	4,34	5,00	3,45	1,00	1,00	1,70	3,17
	Máximo	6,15	7,86	5,89	6,00	1,60	1,00	5,88	6,46	5,08	5,82	1,40	1,00	3,17	5,82
	Percentil 25	4,08	5,62	1,00	2,36	1,00	1,00	3,20	4,87	5,00	3,64	1,00	1,00	1,70	3,17
	Percentil 50	5,12	6,32	3,45	3,41	1,30	1,00	4,54	5,51	5,04	5,00	1,20	1,00	2,44	4,43
	Percentil 75	-	6,70	-	4,59	-	1,00	-	5,69	-	5,04	-	1,00	-	5,20
SALADA ICEBERG	N	6	11	6	11	6	11	6	11	6	11	6	11	6	11
	Média	5,00	6,42	3,41	4,97	1,67	2,05	4,84	5,47	4,05	3,86	1,10	1,05	2,80	4,06
	Mediana	1,17	6,18	3,01	5,11	1,00	1,00	5,13	5,36	3,95	4,26	1,00	1,00	2,56	4,04
	Desvio padrão	3,62	1,03	1,24	1,03	1,63	1,43	1,16	0,89	0,96	1,08	0,15	0,18	0,83	0,80
	Mínimo	6,78	4,90	2,38	3,36	1,00	1,00	3,30	4,57	3,08	1,00	1,00	1,00	2,00	2,48
	Máximo	3,85	7,96	5,49	6,28	5,00	5,36	5,90	7,79	5,81	5,11	1,30	1,60	4,08	5,57
	Percentil 25	4,00	5,26	2,44	4,30	1,00	1,00	3,62	4,88	3,26	3,60	1,00	1,00	2,11	3,82
	Percentil 50	4,92	6,18	3,01	5,11	1,00	1,00	5,13	5,36	3,95	4,26	1,00	1,00	2,56	4,04
	Percentil 75	6,05	7,32	4,46	5,83	2,00	3,00	5,86	5,72	4,59	4,43	1,30	1,00	3,62	4,41
TOMATE LAMINADO	N	3	9	3	9	3	9	3	9	3	9	3	9	3	9
	Média	2,83	6,29	1,30	2,40	1,43	2,18	2,54	4,25	1,00	2,80	1,91	1,00	2,38	4,15
	Mediana	2,93	6,49	1,00	1,70	1,00	2,54	1,00	4,15	1,00	2,98	2,04	1,00	2,38	3,98
	Desvio padrão	0,45	1,94	0,52	1,56	0,75	0,95	2,67	0,96	0,00	1,53	0,86	0,00	0,60	0,78
	Mínimo	2,34	3,45	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,78	2,79
	Máximo	3,23	8,76	1,90	4,87	2,30	3,28	5,62	5,76	1,00	4,70	2,70	1,00	2,98	5,20
	Percentil 25	2,34	4,20	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	3,34	1,00	1,00	1,00	1,00	1,78	3,67
	Percentil 50	2,93	6,49	1,00	1,70	1,00	2,54	1,00	4,15	1,00	2,98	2,04	1,00	2,38	3,98
	Percentil 75	-	8,11	-	4,10	-	3,02	-	5,02	1,00	4,40	-	1,00	-	4,91

Tabela 7 – Medidas estatísticas das AI e AF por parâmetro microbiológico.

	Cont. totais		Coliformes totais		<i>Enterococcus spp.</i>		<i>Pseudomonas spp.</i>		<i>Aeromonas hydrophila</i>		Bolores		Leveduras	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
N	11	29	11	29	11	29	11	29	11	29	11	29	11	29
Média	4,43	6,34	2,84	3,71	4,54	1,76	4,16	5,06	36,40	3,77	1,34	1,02	2,62	4,13
Mediana	4,08	6,38	2,46	3,79	1,00	1,00	4,54	5,04	3,93	4,26	1,00	1,00	2,38	4,04
Desvio padrão	1,41	1,28	1,73	1,73	1,22	1,13	1,88	0,98	1,73	1,35	0,55	0,11	0,75	0,86
Mínimo	2,34	3,45	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,70	2,48
Máximo	6,78	8,76	5,89	6,28	5,00	5,36	5,90	7,79	5,81	5,82	2,70	1,60	4,08	5,82
Percentil 25	3,23	5,34	1,00	2,03	1,00	1,00	3,20	4,57	1,00	3,19	1,00	1,00	2,00	3,37
Percentil 50	4,08	6,38	2,46	3,79	1,00	1,00	4,54	5,04	3,93	4,26	1,00	1,00	2,38	4,04
Percentil 75	5,81	7,25	4,12	5,11	1,60	2,57	5,88	4,80	5,00	4,80	1,40	1,00	3,17	4,81

4.2 Apresentação dos resultados por parâmetro

Para cada parâmetro microbiológico são apresentados os resultados do total de AI e AF, das AI e AF de cada um dos produtos em estudo, da avaliação microbiológica da amostra e para a avaliação da qualidade microbiológica das AI e AF dos diferentes produtos.

4.2.1 Contagens totais a 30°C

Observou-se um aumento evidente das contagens finais, em relação às contagens iniciais, conforme se verifica no Gráfico 1. Nas AI, o valor mínimo obtido foi 2,34 log/g, ao passo que nas AF o mínimo foi 3,45 log/g, representando um aumento de 1,11 log/g. Em termos de valores máximos houve um aumento de 1,98 log/g, tendo as AI um valor máximo de 6,78 log/g, e as AF 8,76 log/g. Estas diferenças refletem-se ainda nos valores de mediana e de média obtidos, sendo que para as contagens iniciais os valores foram 4,08 log/g e 4,23 log/g, respetivamente, enquanto para as contagens finais o valor da mediana foi 6,38 log/g, representando um aumento de 2,3 log/g, com uma média de 6,34 log/g, representando um aumento de 2,11 log/g. As AI apresentaram uma amplitude interquartil (AIQ) de 2,58log/g e um desvio padrão de 1,41. Nas AF estes valores foram de 1,91log/g e 1,28, respetivamente, o que representa uma diminuição da AIQ em 0,67log/g e do desvio padrão em 0,13.

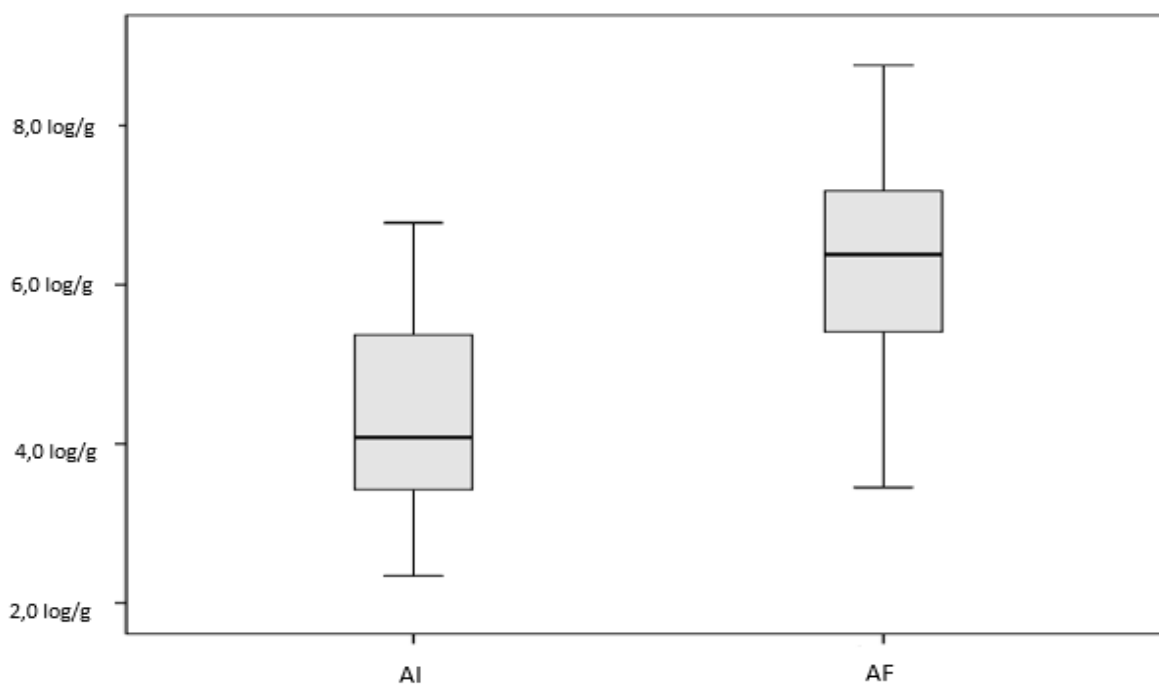


Gráfico 1 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para Contagens totais a 30°C

No Gráfico 2, verifica-se que as AI de manga obtiveram um valor máximo de 6,15log/g, um mínimo de 4,08log/g, um valor de média e de mediana de 5,12log/g e um desvio padrão de 1,46. As AF de manga obtiveram um valor máximo de 7,86 log/g, um mínimo de 5,2log/g, uma média de 6,31log/g, uma mediana de 6,32log/g e um desvio padrão de 0,80. Dos valores iniciais para os finais, o valor máximo teve um aumento de 1,71log/g, o valor mínimo teve um aumento de 1,12log/g, a média aumentou 1,19log/g e a mediana aumentou 1,20log/g.

As AI de salada Iceberg, tiveram um valor máximo de 6,78log/g, um mínimo de 3,62log/g, uma média de 5,0log/g, uma mediana de 4,92log/g, um desvio padrão de 1,17 e uma AIQ de 2,05log/g. As AF apresentaram um máximo de 7,96log/g, representando um aumento em 1,18log/g, um mínimo de 4,9log/g, tendo aumentado 1,28log/g, uma média de 6,42log/g, com um aumento de 1,42log/g, uma mediana de 6,18log/g, com um aumento de 1,26log/g e um desvio padrão de 1,03. A AIQ das AF foi de 4,88, representando um aumento de 2,83log/g.

Nas AI de tomate, obteve-se um valor máximo de 3,23log/g, um mínimo de 2,34log/g, uma média de 2,83log/g, uma mediana de 2,93log/g e um desvio padrão de 0,45. Nas AF obteve-se um valor máximo de 8,76log/g, um mínimo de 3,45log/g, uma média de 6,29log/g, uma mediana de 6,49log/g e um desvio padrão de 1,94. O valor máximo

aumentou 5,23log/g, o valor mínimo aumentou 1,11log/g, a média aumentou 3,46log/g e a mediana subiu 3,56log/g.

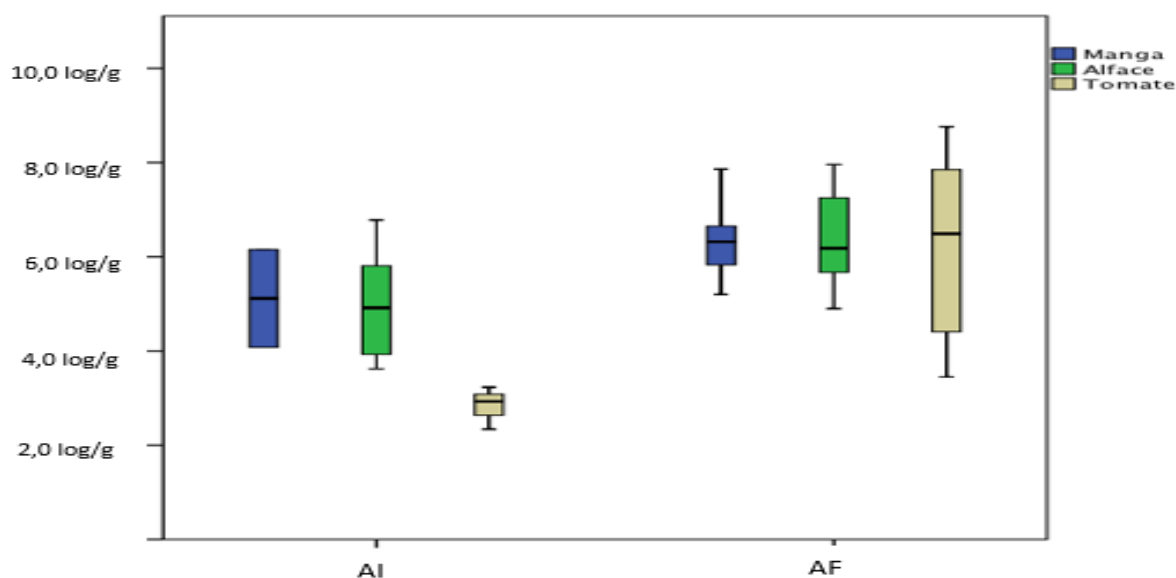


Gráfico 2 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para Contagens totais a 30°C.

Relativamente à avaliação da qualidade microbiológica das amostras, em termos de contagens totais¹, das 40 amostras analisadas, verificou-se que 55% das amostras eram “Não satisfatórias”, 28% “Aceitáveis” e 17% “Satisfatórias” (Gráfico 3). O que significa que, em termos de qualidade microbiológica, apenas 45% das amostras apresentavam contagens dentro dos limites de aceitabilidade.

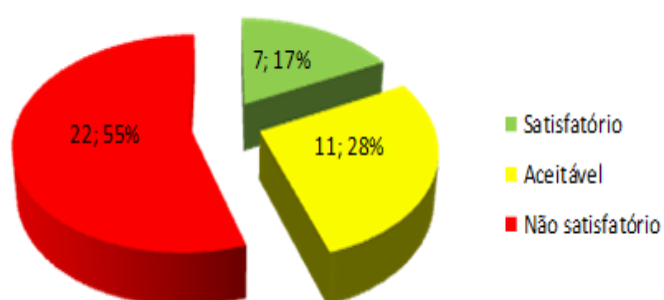


Gráfico 3 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras para Contagens totais a 30°C.

¹ Avaliação realizada com base nos Valores Guia do INSA.

No Gráfico 4, a avaliação da qualidade microbiológica, em termos de contagens totais, é apresentada por produto e por momento de análise. Nas análises iniciais realizadas à manga, 50% dos valores obtidos foram “Aceitáveis” e os restantes 50% foram “Não satisfatórios”. Aquando a análise das amostras de manga finais, após o circuito de distribuição, as amostras “Não satisfatórias” aumentaram para 66,67%, sendo que apenas 33,33% das amostras eram “Aceitáveis”. Nas AI realizadas à salada Iceberg, não se obtiveram valores “Não satisfatórios”, sendo que 40% das amostras apresentaram valores “Satisfatórios” e as restantes 60% “Aceitáveis”. Contudo, nas AF 72,73% dos valores obtidos foram “Não satisfatórios”, com apenas 27,27% das amostras avaliadas como “Aceitáveis”. Nas amostras de tomate, 100% das contagens iniciais foram “Satisfatórias”, enquanto nas AF 66,67% obtiveram resultados “Não satisfatórios”, 11,11% “Aceitáveis” e 22,22% “Satisfatórios”.

Em termos globais, o tomate foi o produto com uma maior percentagem de resultados iniciais “Satisfatórios”, todos, seguido da salada Iceberg com 40%. Nestes dois produtos, todas as amostras analisadas inicialmente estavam dentro dos valores de aceitação, isto é, nenhuma das amostras apresentou valores “Não satisfatórios”. Por outro lado, a manga apresentou AI com valores “Não satisfatórios”, sendo que apenas 50% das mesmas estavam dentro dos limites de aceitação.

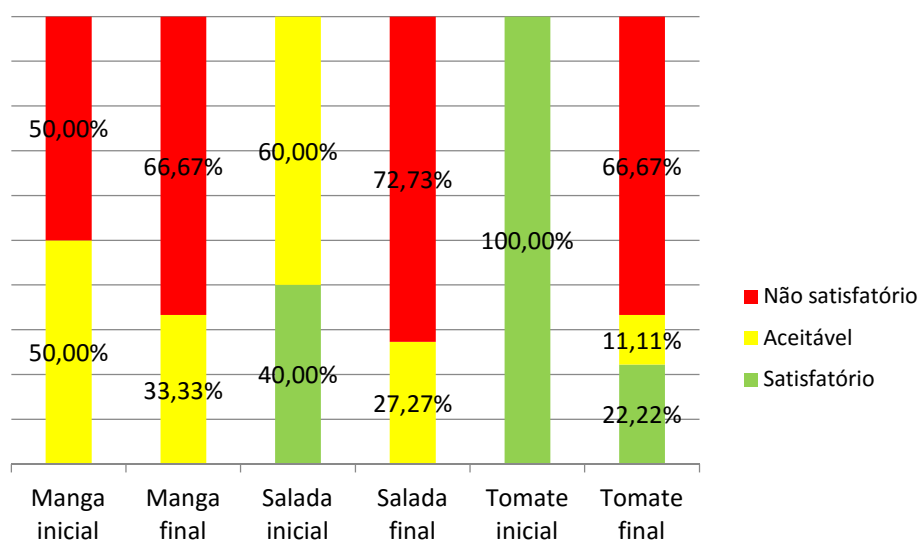


Gráfico 4 – Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de Contagens totais a 30°C.

4.2.2 Pesquisa e contagem de Coliformes totais

Tal como se verificara nas contagens totais, também os valores obtidos nas contagens de coliformes totais aumentaram nas AF. O valor mínimo obtido foi igual em ambos os momentos de análise, com valor $\leq 1 \log/g$. No entanto, é importante referir que nas AI 25% dos resultados correspondem ao valor mínimo obtido, $\leq 1 \log/g$, ao passo que nas AF 25% das amostras encontram-se entre ≤ 1 e $\leq 2,03 \log/g$. Nas AI, o valor máximo obtido foi $5,89 \log/g$, e nas AF este valor foi de $6,28 \log/g$, representando um aumento de $0,39 \log/g$. A mediana dos resultados iniciais é igual a $2,46 \log/g$, e a dos resultados finais igual a $3,79$, tendo ocorrido um aumento de $1,33 \log/g$. A média dos resultados teve um aumento de $0,87 \log/g$, uma vez que a média dos resultados iniciais é de $2,84 \log/g$ e a dos finais $3,71 \log/g$. As AI apresentam um desvio padrão de $1,73$, tal como as AF, e uma AIQ de $3,12 \log/g$. Nas AF a AIQ foi de $3,08 \log/g$, tendo decrescido $0,04 \log/g$ em relação às iniciais.

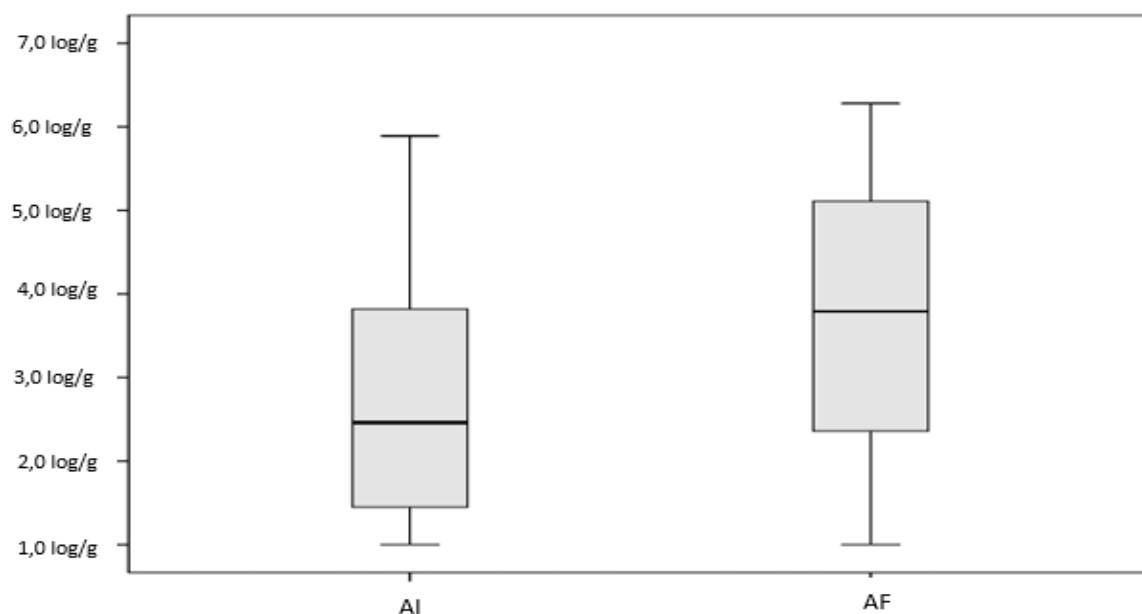


Gráfico 5 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para coliformes totais.

No Gráfico 6, verifica-se que as AI de manga, obtiveram um valor máximo de $5,89 \log/g$, um mínimo de $1,0 \log/g$, um valor de média e de mediana de $3,45 \log/g$ e um desvio padrão de $3,46$. As AF de manga obtiveram um valor máximo de $6,0 \log/g$, um mínimo de $1,0 \log/g$, uma média de $3,49 \log/g$, uma mediana de $3,41 \log/g$ e um desvio padrão de $1,59$. Dos valores iniciais para os finais, o valor máximo teve um aumento de $0,11 \log/g$, a média aumentou $0,04 \log/g$, sendo que a mediana foi o único valor que diminuiu $0,04 \log/g$.

As AI de salada Iceberg, tiveram um valor máximo de 5,49log/g, um mínimo de 2,38log/g, uma média de 3,41log/g, uma mediana de 3,01log/g, um desvio padrão de 1,24 e uma AIQ de 2,02log/g. As AF apresentaram um máximo de 6,28log/g, representando um aumento em 0,79log/g, um mínimo de 3,36log/g, tendo aumentado 0,98log/g, uma média de 4,97log/g, com um aumento de 1,56log/g, uma mediana de 5,11log/g, com um aumento de 2,10log/g, uma AIQ de 1,53log/g, com um decréscimo de 0,49log/g e um desvio padrão de 1,03.

Nas AI de tomate, obteve-se um valor máximo de 1,9log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média de 1,3log/g, uma mediana de 1,0log/g e um desvio padrão de 0,52. Nas AF obteve-se um valor máximo de 4,87log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média de 2,40log/g, uma mediana de 1,70log/g e um desvio padrão de 1,56. O valor máximo aumentou 2,97log/g, a média aumentou 1,1log/g e a mediana subiu 0,70log/g.

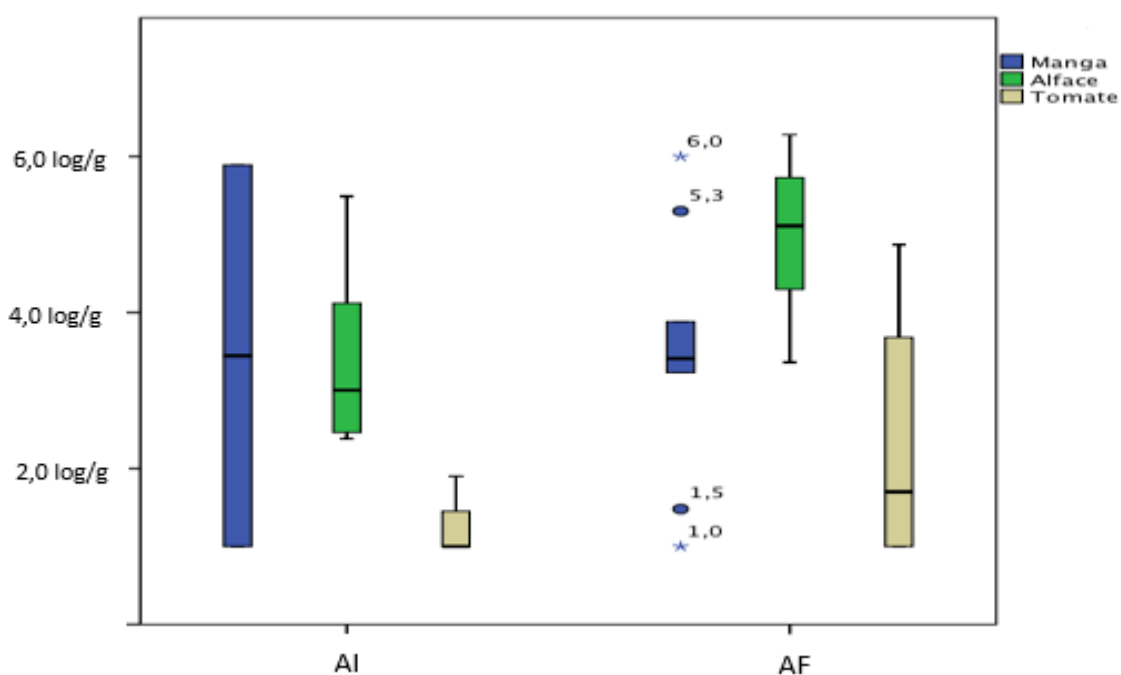


Gráfico 6 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para coliformes totais.

Quanto à avaliação da qualidade microbiológica das amostras, relativamente a coliformes totais², verificou-se que 40% das 40 amostras analisadas eram “Não satisfatórias”, 33% “Aceitáveis” e 27% “Satisfatórias”, conforme ilustrado no Gráfico 7.

² Avaliação realizada com base nos Valores Guia do INSA.

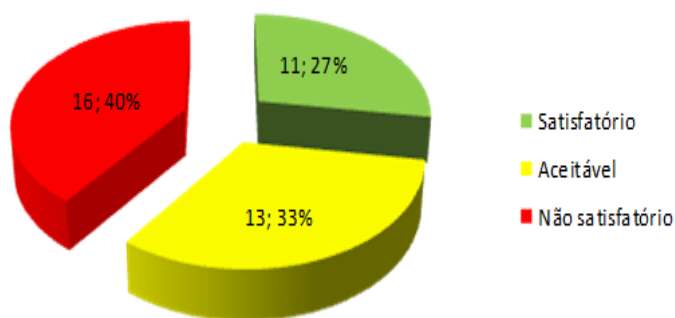


Gráfico 7 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de coliformes totais.

No Gráfico 8, é-nos possível analisar a qualidade microbiológica, quanto à enumeração de coliformes totais por produto. Nas análises iniciais realizadas à manga, 50% dos resultados foram considerados “Satisfatórios” e os restantes 50% foram considerados “Não satisfatórios”. Nas AF deste produto, apenas 22,22% eram “Satisfatórias”, 55,56% “Aceitáveis”, e 22,22% “Não satisfatórias”. Nas amostras de salada Iceberg as AI 66,67% dos resultados foram “Satisfatórios” e 33,33% “Não satisfatórios”. Após o circuito de distribuição a percentagem de resultados “Não satisfatórios” aumentou para 81,82%, sendo que os restantes 18,18% correspondem a resultados “Aceitáveis”. Todas as AI de tomate, tal como se verificara nas contagens totais, apresentaram resultados “Satisfatórios”. Nas AF, 55,56% das amostras eram “Satisfatórias”, 22,22% “Aceitáveis” e 22,22% “Não satisfatórios”.

Verifica-se assim que o tomate foi o único produto cujas amostras estavam todas dentro dos parâmetros de aceitabilidade. A manga e a salada Iceberg apresentaram resultados “Não satisfatórios” nas AI, 50% e 33,33% respetivamente. Em termos de resultados finais, as amostras de tomate e de manga foram as que apresentaram uma maior percentagem de resultados dentro dos limites de aceitação, 77,78%, ao passo que 81,82% das AF de salada Iceberg eram “Não satisfatórias”.

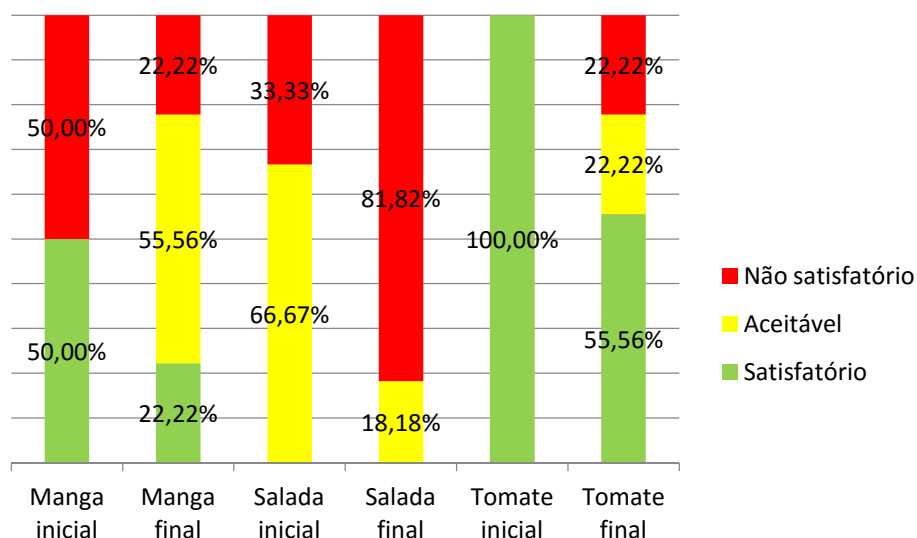


Gráfico 8 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de coliformes totais.

4.2.3 Pesquisa e contagem de *Enterococcus spp*

Relativamente a *Enterococcus*, verificou-se um aumento nas contagens realizadas nas AF. O valor mínimo foi igual em ambos os momentos de análise, com valores $\leq 1 \log/g$. Tanto nas AI como nas finais, o valor mínimo obtido corresponde a 50% das amostras. Nas AI, 25% das amostras encontram-se entre ≤ 1 e $1,6 \log/g$, sendo que nestas amostras os valores obtidos são mais próximos uns dos outros, conforme se observa no gráfico 9, apesar de apresentar de duas das amostras terem obtido valores muito díspares dos restantes, de $2,3$ e $5,0 \log/g$, correspondendo este último ao valor máximo obtido para estas amostras. Nas AF, 25% das amostras encontram-se entre ≤ 1 e $2,57 \log/g$, existindo assim uma maior dispersão dos valores obtidos, quando em comparação com as AI, sendo o valor máximo obtido foi de $5,4 \log/g$.

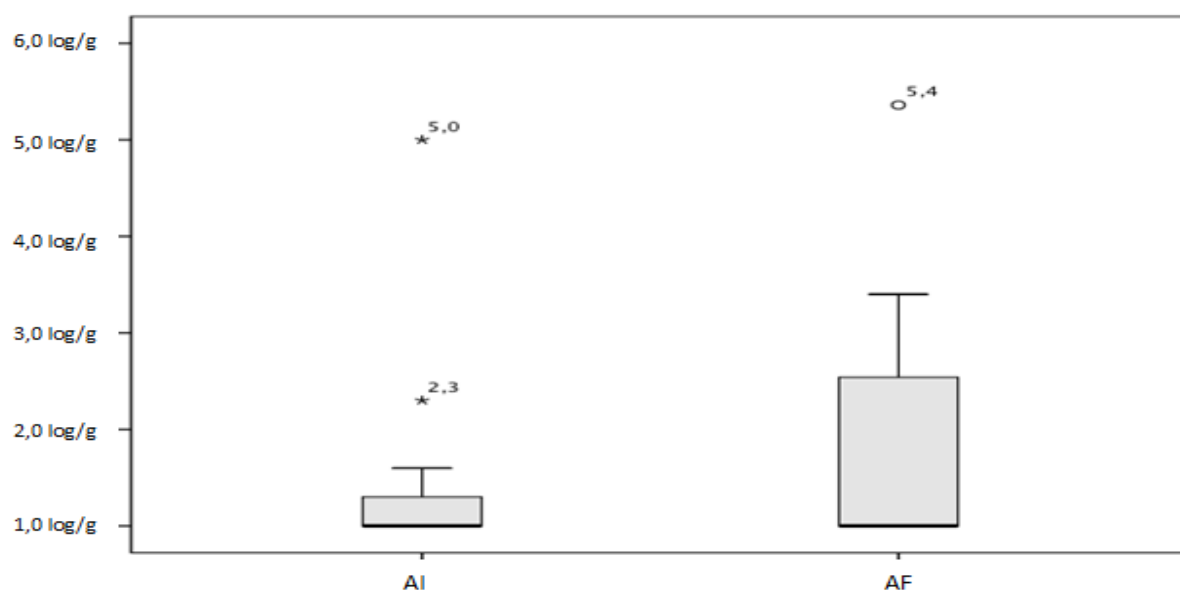


Gráfico 9 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para *Enterococcus* spp..

No Gráfico 10, verifica-se que as AI de manga, obtiveram um valor máximo de 1,6log/g, um mínimo de 1,0log/g, um valor de média e de mediana de 3,45log/g e um desvio padrão de 0,42. Nas AF todos os valores foram de 1,0log/g, o que representa um decréscimo em relação aos valores iniciais.

As AI de salada Iceberg, tiveram um valor máximo de 5,0log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média de 1,67log/g, uma mediana de 1,0log/g, um desvio padrão de 1,63 e uma AIQ de 1,00log/g. As AF apresentaram um máximo de 5,36log/g, representando um aumento em 0,36log/g, um mínimo e uma mediana de 1,0log/g, tal como nas AI, uma média de 2,05log/g, com um aumento de 0,38log/g, uma AIQ de 2,00, com um aumento de 1,00log/g e um desvio padrão de 1,43.

Nas AI de tomate, obteve-se um valor máximo de 2,3log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média de 1,43log/g, uma mediana de 1,0log/g e um desvio padrão de 0,75. Nas AF obteve-se um valor máximo de 3,28log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média de 2,18log/g, uma mediana de 2,54log/g e um desvio padrão de 0,95. O valor máximo aumentou 0,98log/g, a média aumentou 0,75log/g e a mediana subiu 1,54log/g.

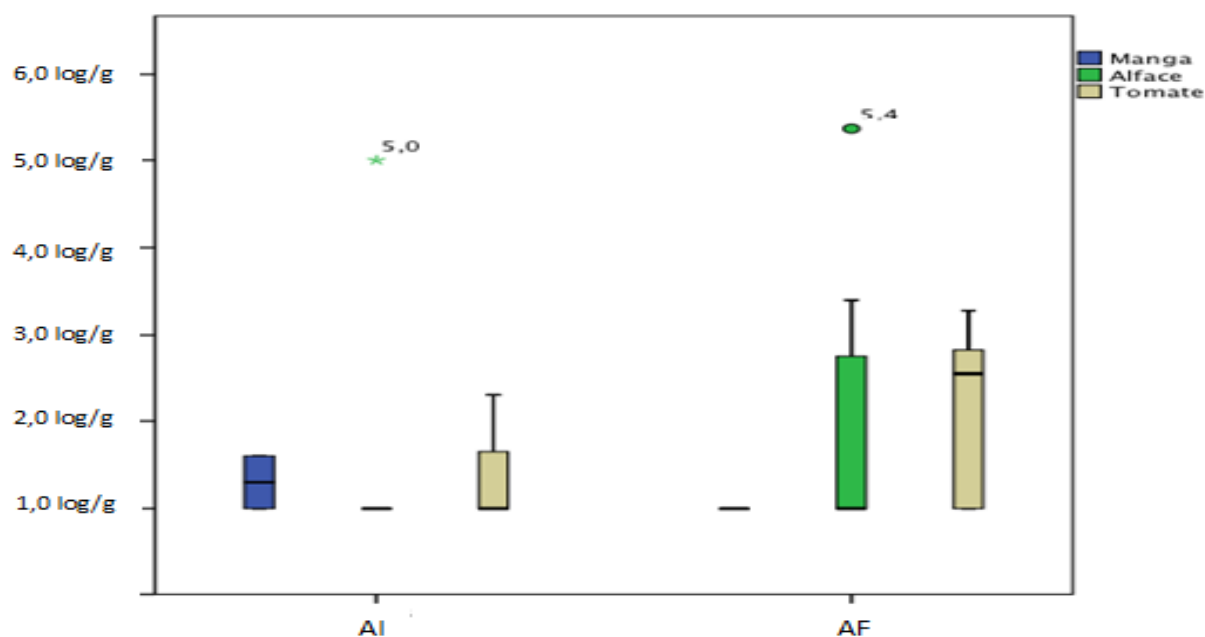


Gráfico 10 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para *Enterococcus* spp..

Quanto à avaliação da qualidade microbiológica das amostras, relativamente a *Enterococcus*, verificou-se que, das 40 amostras analisadas, 33% obtiveram resultados “Não satisfatórios”, 5% foram “Aceitáveis” e 62% obtiveram resultados “Satisfatórios”, conforme o ilustrado no Gráfico 11.

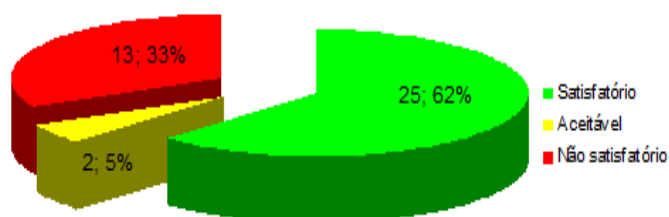


Gráfico 11 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de *Enterococcus* spp..

O Gráfico 12 apresenta a avaliação microbiológica das amostras quanto à enumeração de *Enterococcus* spp. por produto. Nas AI de manga, 50% das amostras apresentaram

resultados “Satisfatórios” e os restantes 50% obtiveram resultados “Não Satisfatórios”. Nas AF, não se obtiveram resultados “Não Satisfatórios”, 11,11% das amostras apresentaram resultados “Aceitáveis”, e as restantes 88,89% “Satisfatórios”. Relativamente às AI de salada Iceberg, 88,83% apresentaram resultados “Satisfatórios” e os remanescentes 16,67% “Não Satisfatórios”. Nas AF de salada Iceberg, 54,55% das amostras tiveram resultados “Satisfatórios”, 9,09% “Aceitáveis” e 36,36% “Não Satisfatórios”. Nas amostras de tomate, nas iniciais verificaram-se 66,67% com resultados “Satisfatórios” e 33,33% com resultados “Não Satisfatórios”, sendo que nas AF estes valores invertem-se.

Os três diferentes tipos de produto apresentaram AI com resultados fora dos parâmetros de aceitabilidade. Sendo que a manga foi o produto que apresentou uma maior percentagem de resultados “Não Satisfatórios”, nas AI, contudo, as AF foram as que apresentaram uma maior percentagem de resultados “Satisfatórios”.

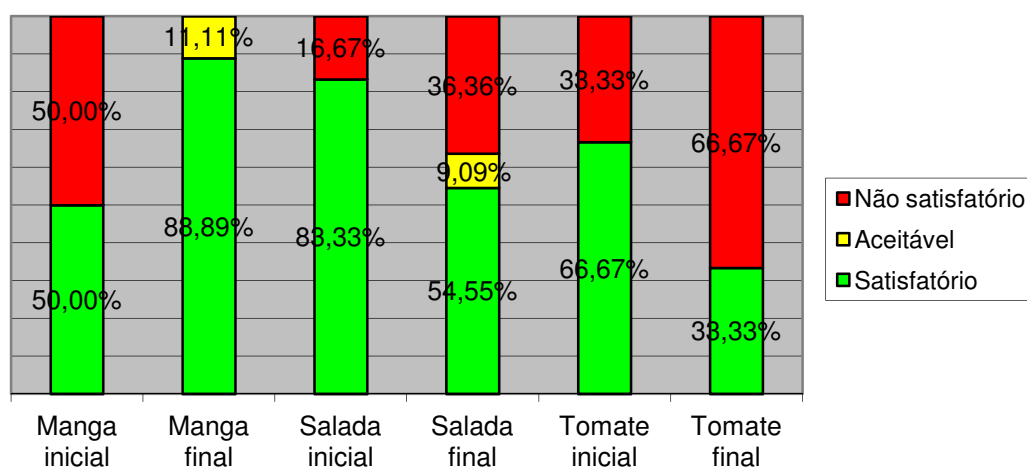


Gráfico 12 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de *Enterococcus* spp..

4.2.4 Pesquisa e contagem de Bolores

Ao contrário do verificado nos restantes parâmetros microbiológicos, a enumeração de bolores, nas AF, foi inferior à das AI. 2,7 log/g foi o máximo obtido na enumeração de bolores, nas AI, tendo as AF um valor máximo de 1,6 log/g, o que revela um decréscimo de 1,1 log/g. O valor mínimo, tal como a mediana, foi igual nos dois momentos de análise, com um valor ≤ 1 log/g. Contudo, nas amostras analisadas após o

circuito pela cadeia de distribuição, 75% dos resultados correspondiam ao valor mínimo obtido, ao passo que, nas AI 75% dos resultados apresentaram valores $\leq 1,4$ log/g. A média obtida nas AI, 1,34 log/g, foi superior à das AF em 0,32 log/g.

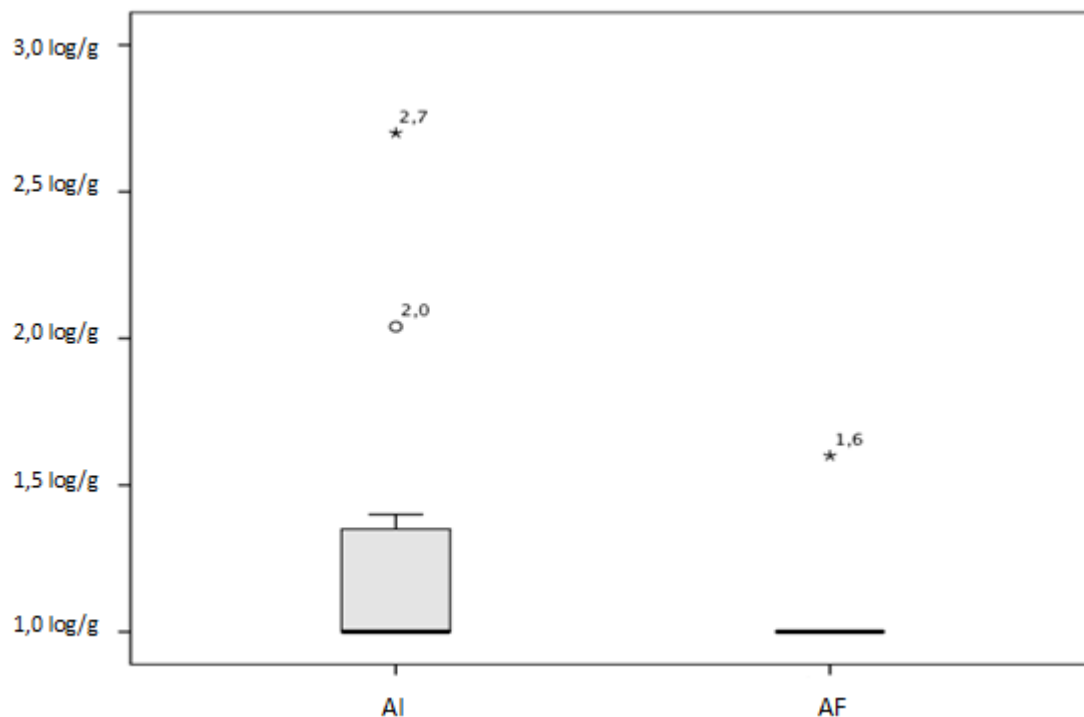


Gráfico 13 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para Bolores.

No Gráfico 14, verifica-se que as AI de manga, obtiveram um valor máximo de 1,4log/g, um mínimo de 1,0log/g, um valor de média e de mediana de 1,2log/g e um desvio padrão de 0,28. Nas AF houve um decréscimo, em relação aos valores iniciais, para 1,0log/g.

As AI de salada Iceberg tiveram um valor máximo de 1,3log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média e uma mediana de 1,1log/g, um desvio padrão de 0,154 e uma AIQ de 0,30. As AF apresentaram um máximo de 1,6log/g, representando um aumento em 0,3log/g, um mínimo e uma mediana de 1,0log/g, tal como nas AI, uma média de 1,05log/g, com um decréscimo de 0,05log/g, uma AIQ de 0,00log/g, e um desvio padrão de 0,18.

Nas AI de tomate, obteve-se um valor máximo de 2,7log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média de 1,91log/g, uma mediana de 2,04log/g e um desvio padrão de 0,86. Também nas AF de tomate ocorreu uma diminuição de valores, tendo-se obtido valores na ordem do 1,0log/g.

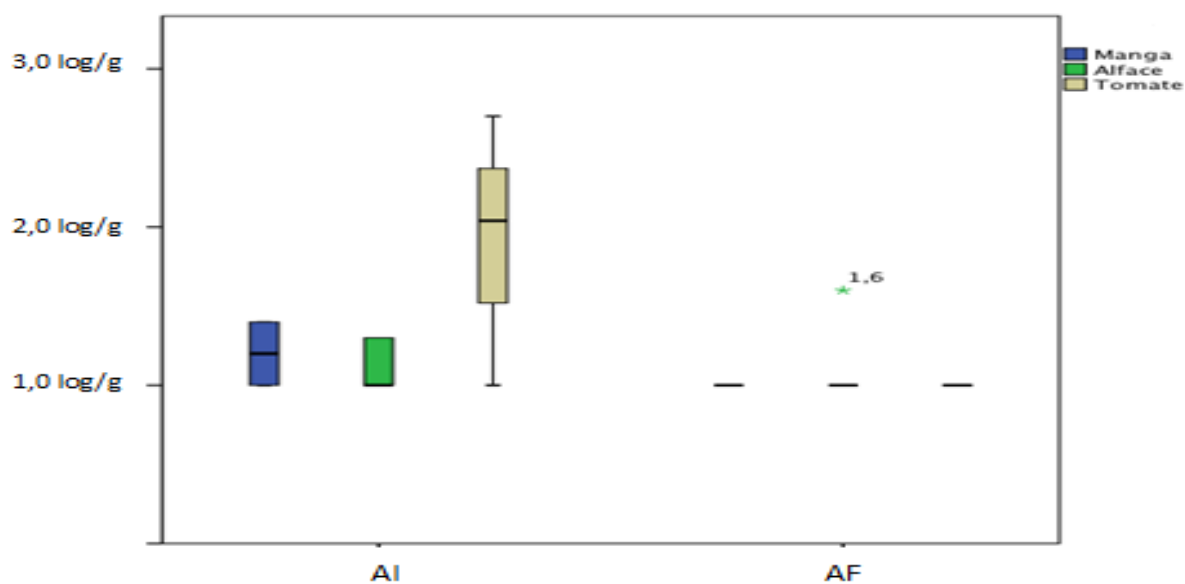


Gráfico 14 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para Bolores.

O Gráfico 15 ilustra a avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de Bolores³, onde se verifica que 92% das amostras analisadas obtiveram resultados considerados “Satisfatórios”, e as restantes 8% “Aceitáveis”. O que significa que todas as amostras estavam dentro dos limites de aceitabilidade.

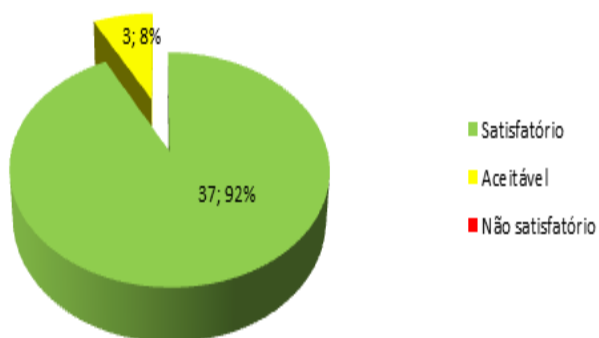


Gráfico 15 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de Bolores.

Pelo Gráfico 16, verifica-se que a salada Iceberg foi o único produto em que tanto as AI como finais eram todas “Satisfatórias”. 50% das AI de manga eram “Satisfatórias” e as

³ Avaliação realizada com base nos Valores Guia do INSA.

restantes “Aceitáveis”, tendo esta tendência invertido nas AF em que os resultados foram todos “Satisfatórios”. As AI de tomate foram as que tiveram uma menor percentagem de resultados “Satisfatórios”, 33,33%, sendo que 66,67% das amostras foram “Aceitáveis”. Contudo, tal como se verificou com as amostras de manga, também as AF de tomate foram 100% “Satisfatórias”.

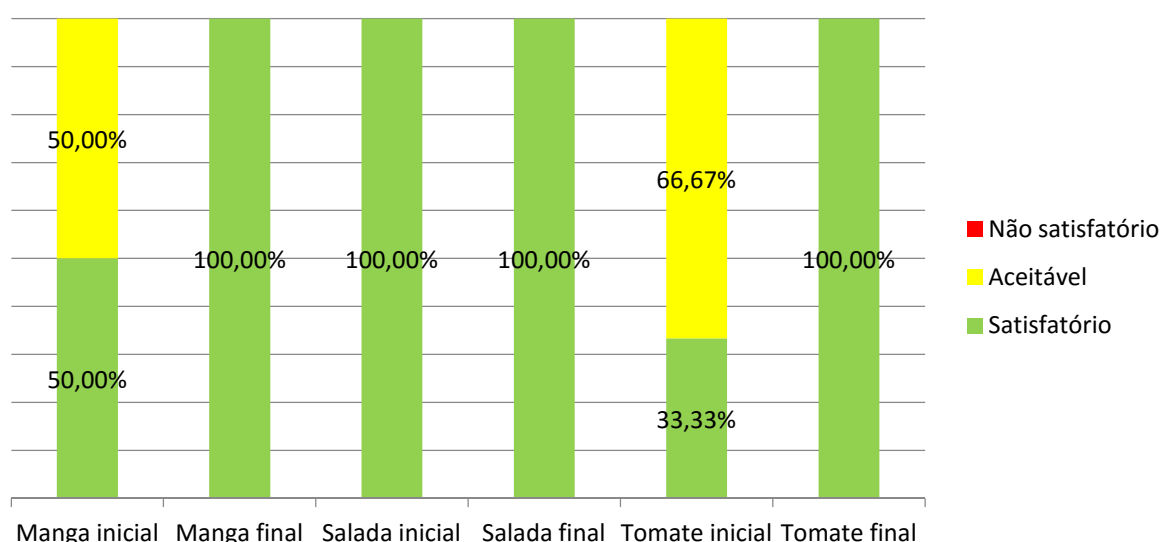


Gráfico 16 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de Bolores.

4.2.5 Pesquisa e contagem de Leveduras

Ao contrário do que se verificara nos Bolores, existe um aumento nas contagens finais de Leveduras, em relação às AI, conforme se verifica no Gráfico 17. Nas AI o valor mínimo obtido foi 1,7 log/g ao passo que nas finais o valor foi 2,48 log/g, o que corresponde a um aumento de 0,78 log/g. Nas AF, o valor máximo foi 5,82 log/g, 1,74 log/g mais elevado que o obtido nas AI, cujo máximo foi de 4,08 log/g. Como seria de prever, os valores da média e da mediana acompanham esta tendência, havendo um aumento da média em 1,52 log/g, sendo que a média inicial é de 2,62 log/g e a final de 4,14 log/g. A mediana sofreu um aumento de 1,66 log/g, sendo que nas amostras iniciais este valor foi de 2,38 log/g e nas finais de 4,04 log/g. Em termos de AIQ e de desvio padrão, as AI apresentaram uma AIQ de 1,17log/g e um desvio padrão de 0,75, ao passo que nas AF estes valores foram de 1,44log/g e 0,86, respetivamente.

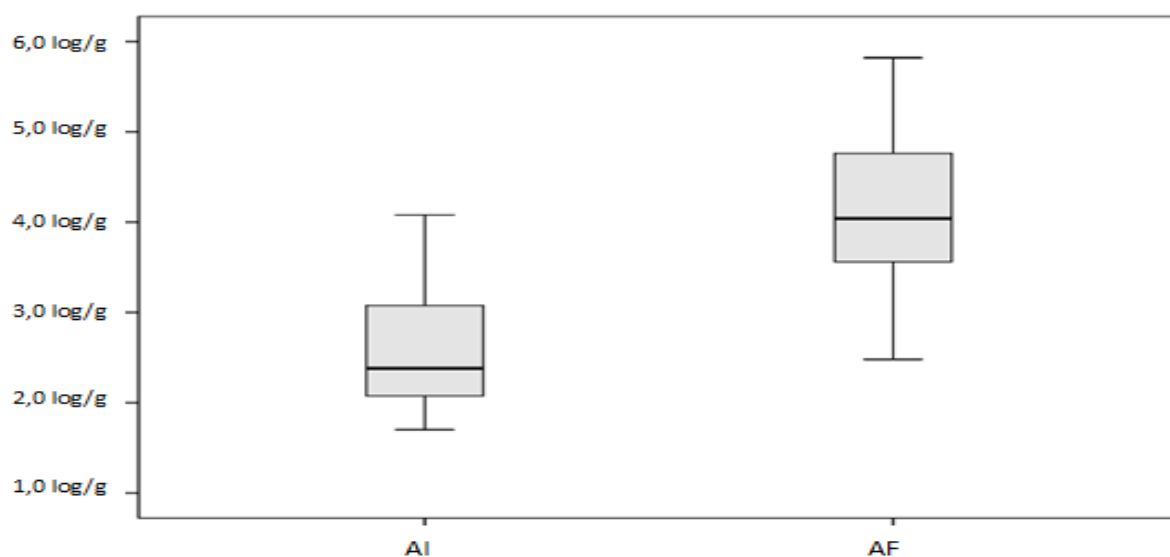


Gráfico 17 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para Leveduras.

No Gráfico 18, verifica-se que as AI de manga obtiveram um valor máximo de 3,17log/g, um mínimo de 1,7log/g, um valor de média e de mediana de 2,44log/g e um desvio padrão de 1,04. As AF obtiveram um máximo 5,82log/g, o que representa um aumento de 2,65log/g, um mínimo de 3,17log/g, tendo aumentado 1,47log/g, uma média de 4,23log/g, com um aumento de 1,79log/g, uma mediana de 4,43log/g, com um aumento de 1,99log/g e um desvio padrão de 1,08.

As AI de salada Iceberg, tiveram um valor máximo de 4,08log/g, um mínimo de 2,0log/g, uma média de 2,8log/g, uma mediana de 2,56log/g, uma AIQ de 1,51log/g e um desvio padrão de 0,83. As AF apresentaram um máximo de 5,57log/g, representando um aumento em 0,99log/g, um mínimo de 2,48log/g, com um aumento de 0,48log/g, uma média de 4,05log/g, com um aumento de 1,25log/g, uma mediana de 4,05log/g, tendo aumentado em 1,48log/g, uma AIQ de 0,59log/g e um desvio padrão de 0,80.

Nas AI de tomate, obteve-se um valor máximo de 2,98log/g, um mínimo de 1,78log/g, uma média e uma mediana de 2,38log/g e um desvio padrão de 0,6. Nas AF obteve-se um valor máximo de 5,2log/g, um mínimo de 2,79log/g, uma média de 4,15log/g, uma mediana de 3,98log/g e um desvio padrão de 0,78. O valor máximo aumentou 2,22log/g, o mínimo 1,01log/g, a média 1,77log/g e a mediana subiu 1,6log/g.

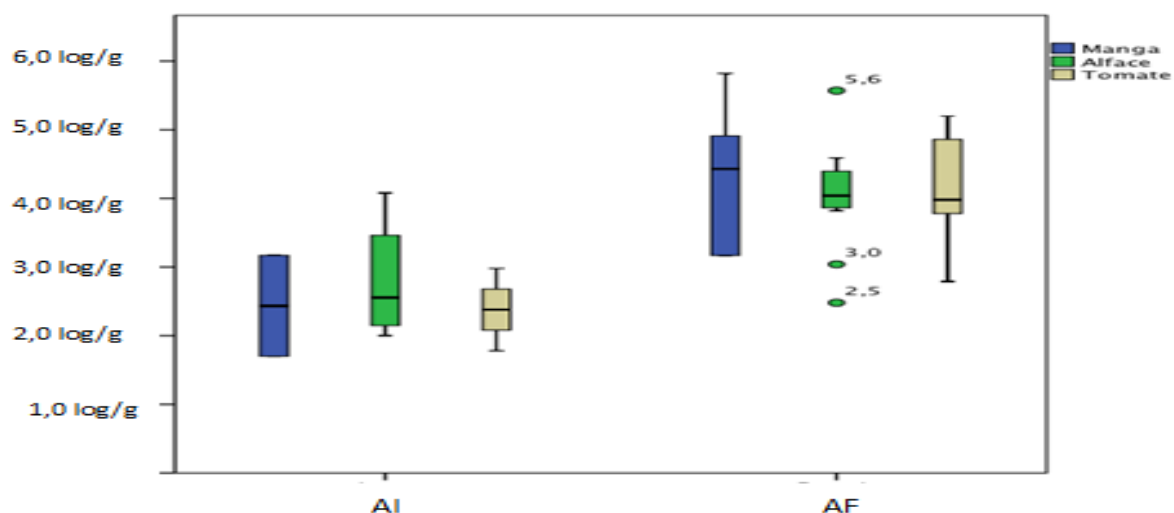


Gráfico 18 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para Leveduras.

O Gráfico 19 resume a avaliação da qualidade microbiológica das amostras, no que concerne a Leveduras⁴, onde se verificou que 90% das amostras estavam dentro dos limites de aceitabilidade, com 88% de resultados “Aceitáveis” e 2% “Satisfatórios”, sendo que os restantes 10% corresponderam a resultados “Não satisfatórios”.

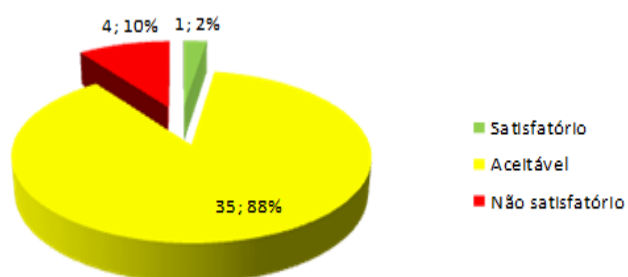


Gráfico 19 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de Leveduras.

Todas as AI estavam dentro dos limites de aceitabilidade, sendo que a manga e salada Iceberg apresentaram todas as AI “Aceitáveis”, e nas de tomate 66,67% eram “Aceitáveis” e 33,33% “Satisfatórias”. Nas AF evidenciaram resultados “Não satisfatórios” em cada um dos produtos, sendo a maior percentagem corresponde à

⁴ Avaliação realizada com base nos Valores Guia do INSA.

manga com 22,22%, seguida pelo tomate com 11,11% e a salada Iceberg com 9,09%. Todas as restantes AF apresentaram resultados “Aceitáveis”.

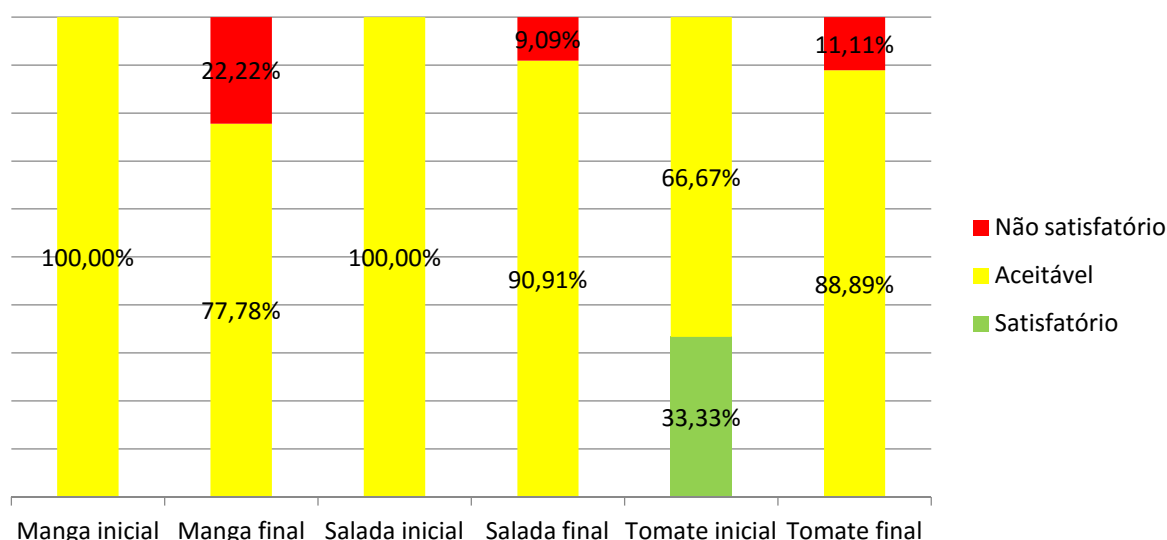


Gráfico 20 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de Leveduras.

4.2.6 Pesquisa e contagem de *Pseudomonas spp.*

Em termos da contagem de *Pseudomonas spp.*, verificou-se um aumento das contagens finais em relação às contagens iniciais, conforme o ilustrado no Gráfico 21. Nas AI, o valor mínimo obtido foi $\leq 1,0 \log/g$, enquanto nas AF obteve-se um valor mínimo de $3,0 \log/g$, representando um aumento de $2,0 \log/g$. Em termos de valores máximos houve um aumento de $1,89 \log/g$, tendo as AI um valor máximo de $5,9 \log/g$, e as finais $7,79 \log/g$. As AI obtiveram uma média de $4,16 \log/g$, e uma mediana de $4,54$, ao passo que as AF obtiveram valores de $5,06 \log/g$ e $5,04 \log/g$, respetivamente. Apesar do aumento, a diferença de valores não atinge um log, havendo um aumento de $0,90 \log/g$ em termos de média, e de $0,5 \log/g$ em termos de mediana. No que concerne a AIQ e o desvio padrão, as AI obtiveram valores de $2,68 \log/g$ e $1,88$, e as finais $0,23 \log/g$ e $0,98$, representando uma diminuição da AIQ em $2,45 \log/g$ e do desvio padrão em $0,9$.

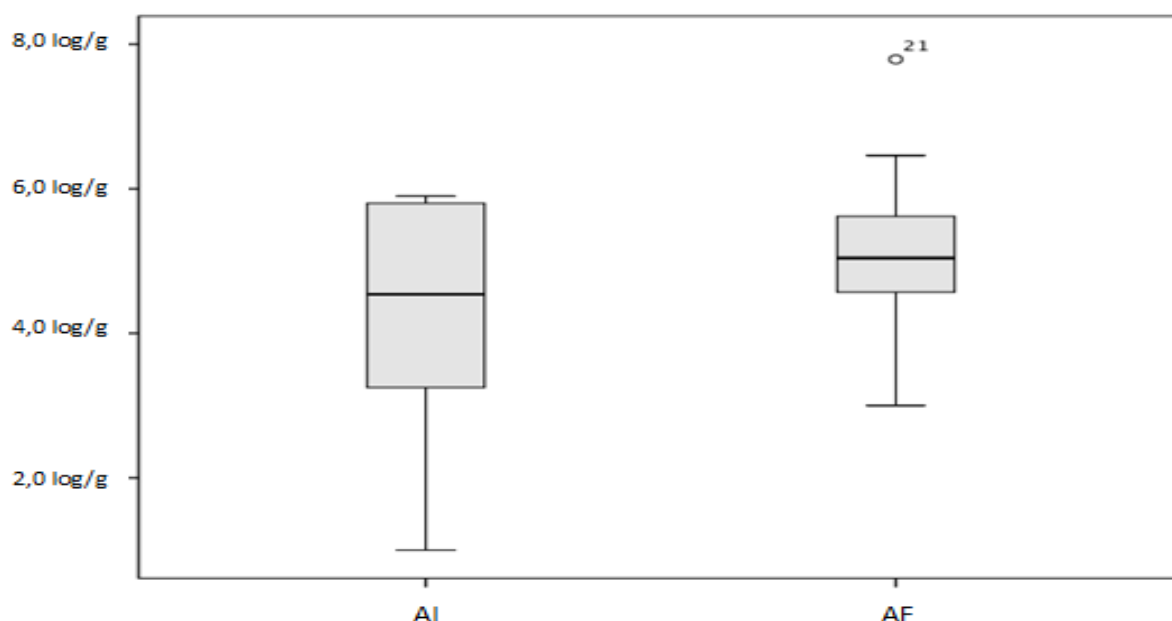


Gráfico 21 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para *Pseudomonas* spp..

No Gráfico 22, verifica-se que as AI de manga, obtiveram um valor máximo de 5,88log/g, um mínimo de 3,2log/g, um valor de média e de mediana de 4,54log/g e um desvio padrão de 1,90. Nas AF o valor máximo diminui 0,58log/g, o mínimo 1,14log/g, a média 0,81log/g e a mediana 0,97log/g, tendo-se obtido os seguintes valores, respetivamente, 6,46log/g, 4,34log/g, 5,35log/g, 5,51log/g e um desvio padrão de 0,63.

As AI de salada Iceberg tiveram um valor máximo de 5,9log/g, um mínimo de 3,3log/g, uma média de 4,84log/g, uma mediana de 5,13log/g e um desvio padrão de 1,58. As AF apresentaram um máximo de 7,79log/g, representando um aumento em 1,89log/g, um mínimo de 4,57log/g, com um aumento de 1,27log/g, uma média de 5,47log/g, maior em 0,63log/g, uma mediana de 5,36log/g, tendo aumentado em 0,23log/g e um desvio padrão de 0,89.

Nas AI de tomate, obteve-se um valor máximo de 5,62log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média de 2,54log/g, uma mediana de 1,0log/g e um desvio padrão de 2,67. Nas AF obteve-se um valor máximo de 5,76log/g, um mínimo de 3,0log/g, uma média de 4,25log/g, uma mediana de 4,15log/g e um desvio padrão de 0,96. O valor máximo aumentou 0,14log/g e o mínimo 2,0log/g, a média aumentou 1,71log/g e a mediana subiu 3,15log/g.

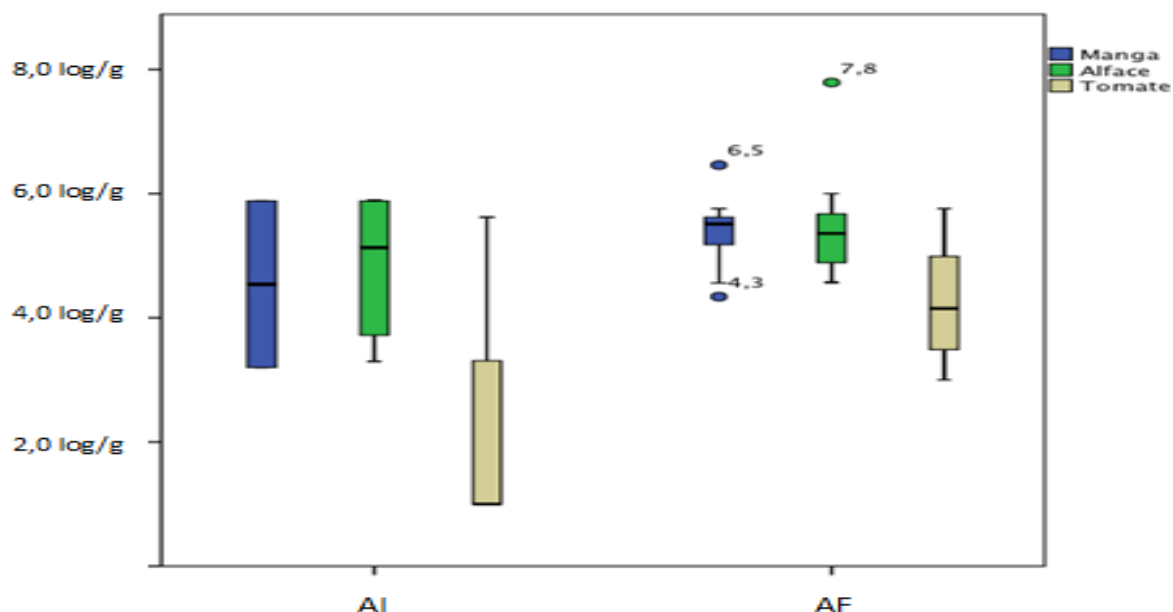


Gráfico 22 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para *Pseudomonas* spp..

Relativamente à avaliação da qualidade microbiológica das amostras, em termos de *Pseudomonas* spp, das 40 amostras analisadas, verificou-se que 8% das amostras eram “Não satisfatórias” e 92% “Satisfatórias” (Gráfico 23).

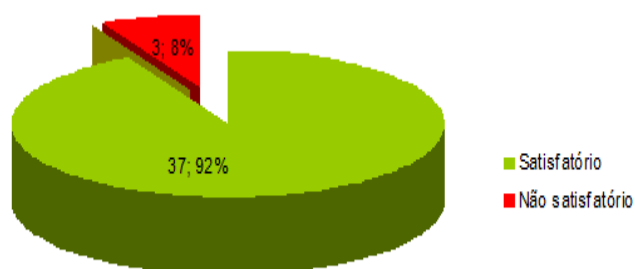


Gráfico 23 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de *Pseudomonas* spp..

No Gráfico 24, a avaliação da qualidade microbiológica, em termos de contagens totais, apresenta-se por produto e por momento de análise. Nas análises iniciais realizadas à manga, 100% dos valores obtidos foram “Satisfatórios”. Quanto às AF de manga, 88,89% das amostras obtiveram resultados “Satisfatórios”, sendo as restantes 11,11% “Não satisfatórias”. Nas AI realizadas à salada Iceberg, não se obtiveram valores “Não

satisfatórios”, sendo que 100% das amostras apresentaram valores “Satisfatórios”. Nas respectivas AF 81,82% dos valores obtidos foram “Satisfatórios”, e 18,18% das amostras avaliadas como “Não satisfatórios”. Nas amostras de tomate, 100% das contagens iniciais foram “Satisfatórias”, tal como nas AF.

Em termos globais, todos os produtos apresentaram 100% das AI dentro de valores satisfatórios para *Pseudomonas spp.*. Relativamente às AF, o tomate foi o que apresentou a maior percentagem de valores satisfatórios, 100%, seguido pela manga com 88,89% e pela salada com 81,82% de valores satisfatórios.

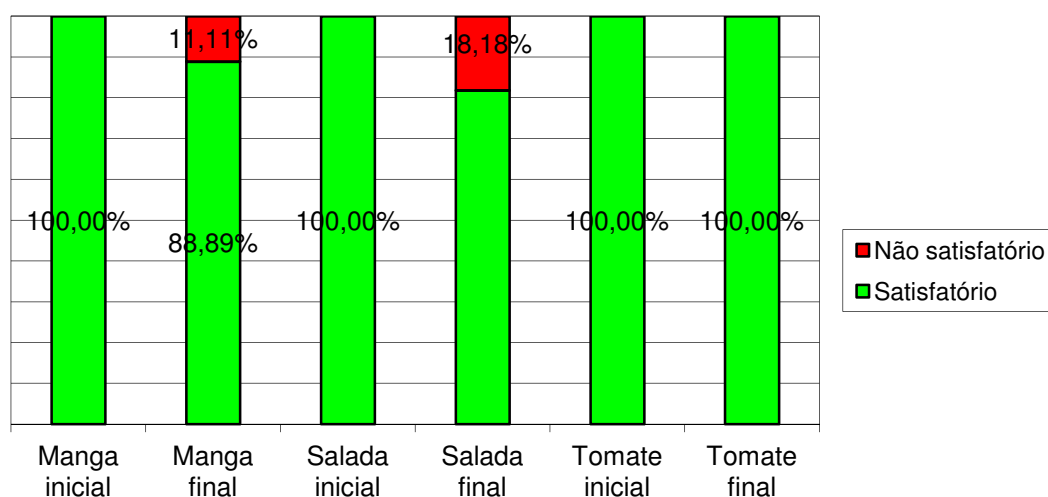


Gráfico 24 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de *Pseudomonas spp.*.

4.2.7 Pesquisa e contagem de *Aeromonas hydrophila*

Relativamente às contagens de *Aeromonas hydrophila*, conforme o ilustrado pelo Gráfico 25, tanto nas AI como nas finais, o valor mínimo obtido foi $\leq 1,0 \log/g$. O valor máximo nas AI foi de $5,81 \log/g$, e nas finais $5,82 \log/g$, o que representa um aumento de $0,01 \log/g$. As AI obtiveram uma média de $3,40 \log/g$, e uma mediana de 3,93, ao passo que as AF obtiveram uma média de $3,77 \log/g$ e uma mediana de $4,26 \log/g$, o que representa um aumento de $0,37 \log/g$ e $0,33 \log/g$, respetivamente. O desvio padrão foi de 1,73, para as AI, e de 1,35 nas AF. Os resultados das AI apresentaram uma AIQ de $4,0 \log/g$, tendo reduzido para $1,61 \log/g$ nas AF.

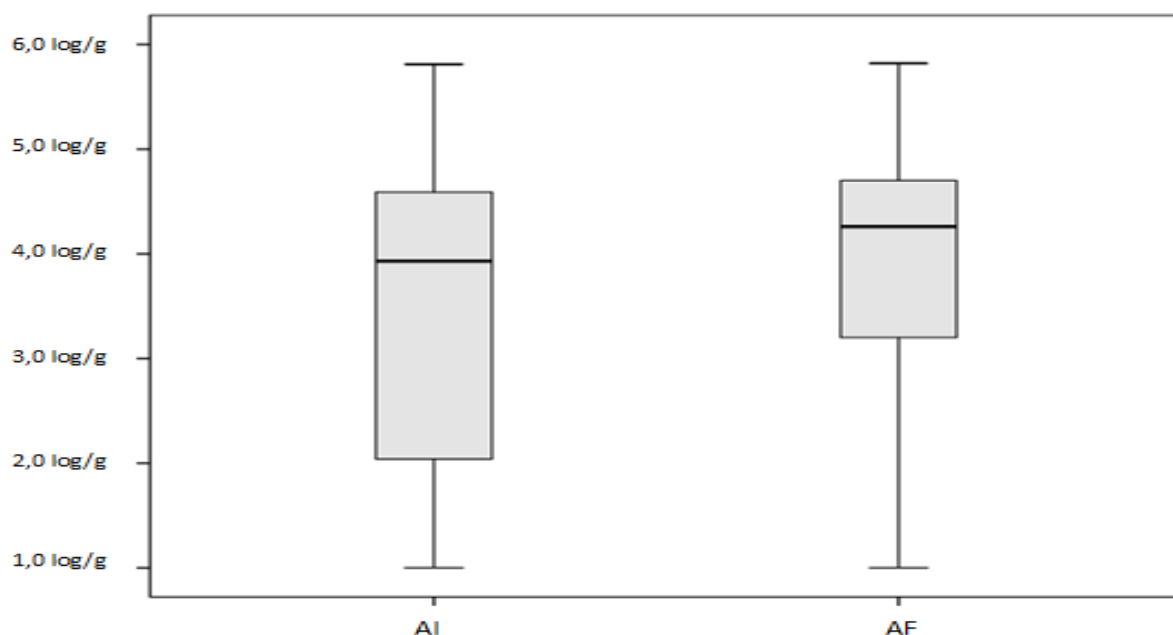


Gráfico 25 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e das amostras finais para *Aweromonas hydrophila*.

No Gráfico 26, verifica-se que as AI de manga obtiveram um valor máximo de 5,08log/g, um mínimo de 5,0log/g, um valor de média e de mediana de 5,04log/g e um desvio padrão de 0,57. Nas AF o valor máximo aumentou em 0,74log/g para 5,82log/g, ao passo que os valores de mínimo, média e mediana diminuíram em 1,36log/g, 0,43log/g e 0,04log/g, respetivamente. Tendo-se obtido um mínimo de 3,64log/g, uma média de 4,61log/g, uma mediana de 5,0log/g e um desvio padrão de 0,83log/g.

As AI de salada Iceberg, tiveram um valor máximo de 5,8log/g, um mínimo de 3,08log/g, uma média de 4,05log/g, uma mediana de 3,95log/g, uma AIQ de 1,33log/g e um desvio padrão de 0,96. As AF apresentaram um máximo de 5,11log/g, representando um decréscimo em 0,70log/g, um mínimo de 1,0log/g, tendo diminuído em 2,08log/g, uma média de 3,86log/g, com uma diminuição em 0,19log/g, uma mediana de 4,26log/g, com um aumento de 0,31log/g, uma AIQ de 0,83log/g, com um decréscimo de 0,5log/g e um desvio padrão de 1,08.

Nas AI de tomate, todos os valores obtidos foram de 1,0log/g. Nas AF, obteve-se um valor máximo de 4,7log/g, um mínimo de 1,0log/g, uma média de 2,80log/g, uma mediana de 2,98log/g e um desvio padrão de 1,53.

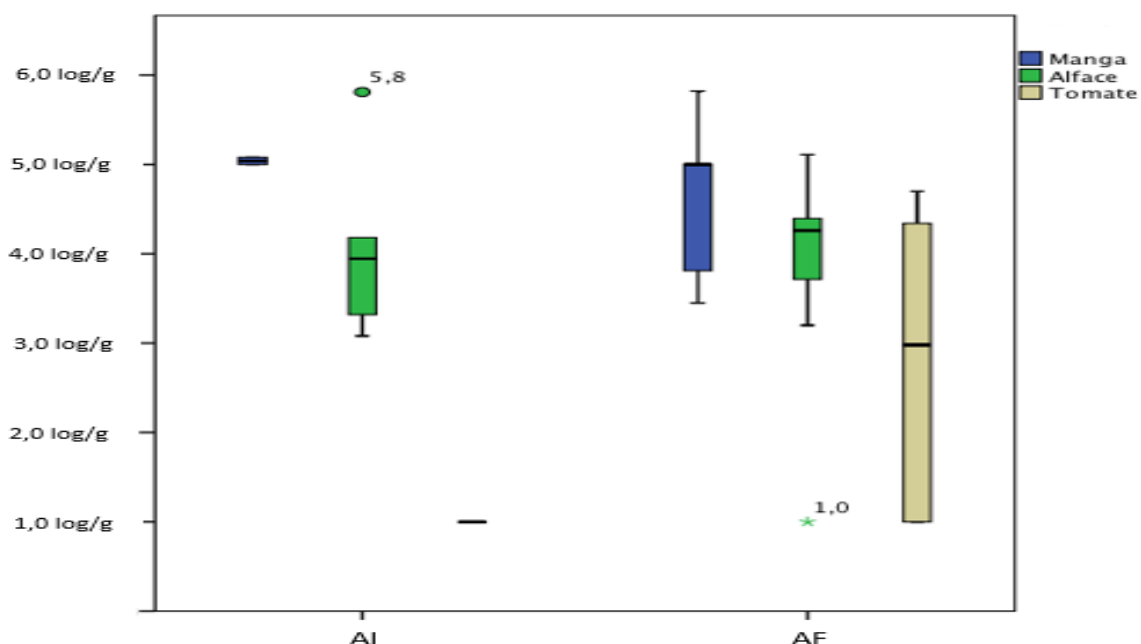


Gráfico 26 - Resultados microbiológicos das amostras iniciais e finais dos diferentes produtos para *Aeromonas hydrophila*.

Relativamente à avaliação da qualidade microbiológica das amostras, em termos de *Aeromonas hydrophila*, das 40 amostras analisadas, verificou-se que 80% das amostras eram “Não satisfatórias” e 20% “Satisfatórias” (Gráfico 27).

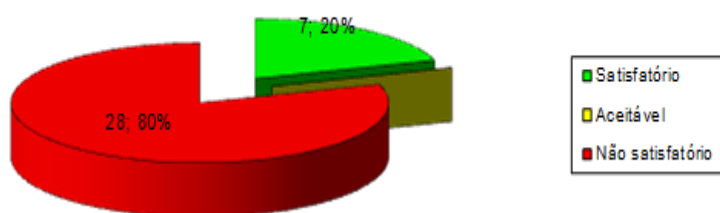


Gráfico 27 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras em termos de *Aeromonas hydrophila*.

No Gráfico 28, a avaliação da qualidade microbiológica apresenta-se por produto e por momento de análise. Nas análises iniciais realizadas à manga, 100% dos valores obtidos foram “Não satisfatórios”, tal como as AF. Nas AI de salada Iceberg, 100% das amostras apresentaram valores “Não satisfatórios”, enquanto nas AF 9,09% das

amostras obtiveram resultados “Satisfatórios” e as restantes, 90,91%, resultados “Não satisfatórios”. Nas amostras de tomate, 100% das contagens iniciais foram “Satisfatórias”. 33,33% das AF de tomate obtiveram valores “Satisfatórios” para 66,67% de “Não satisfatórios”.

Em termos globais, dos três produtos, apenas o tomate apresenta AI satisfatórias, ao contrário dos restantes em que nenhuma das amostras se encontrava dentro dos limites de aceitabilidade. O mesmo acontece nas AF, onde o tomate apresenta 33,33% das amostras satisfatórias, seguido pelas amostras de salada Iceberg com 9,09% de amostras satisfatórias, sendo a manga o único produto que não apresenta amostras com valores de *Aeromonas hydrophila* dentro dos parâmetros de aceitação.

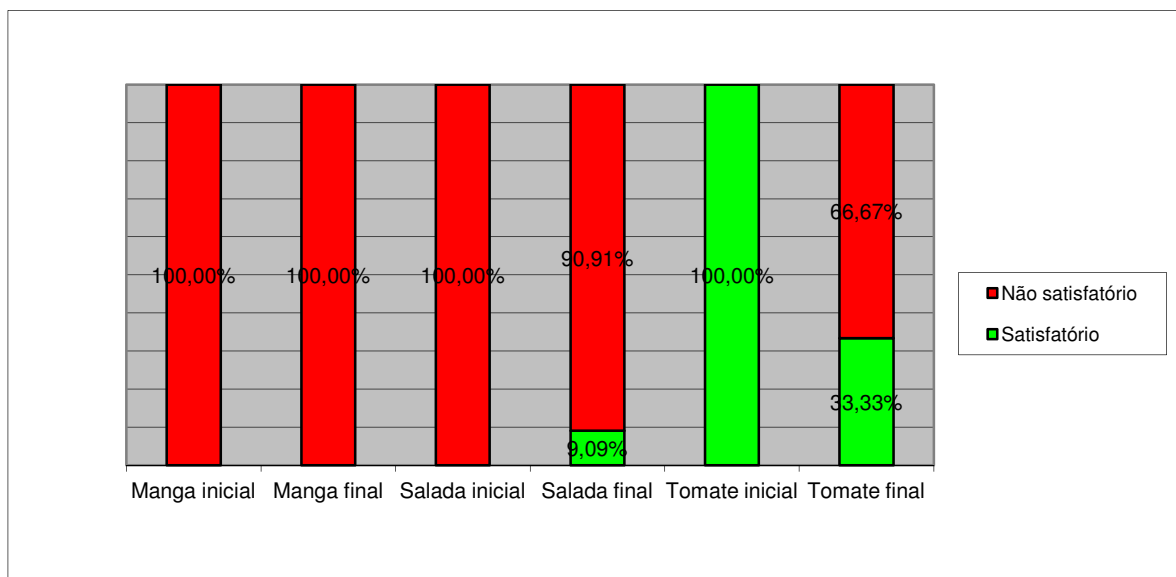


Gráfico 28 - Avaliação da qualidade microbiológica dos diferentes produtos em termos de *Aeromonas hydrophila*.

4.3 Apresentação de resultados por tipo de produto

Foi também realizada uma análise global da qualidade microbiológica dos produtos tendo em conta os parâmetros microbiológicos em estudo.

4.3.1 Avaliação da qualidade microbiológica do universo amostral

No gráfico 29, percebe-se a forma como cada um dos parâmetros influenciou na avaliação final de cada uma das amostras. Verifica-se que a *Aeromonas hydrophila* foi o microrganismo que mais contribuiu para a resultados NS, do ponto de vista

microbiológico, com 80% das amostras com valores “NS”, seguida das Contagens totais com 55%, dos Coliformes totais com 40%, o *Enterococcus* com 32,50%, das Leveduras com 10% e da *Pseudomonas spp.* com 7,50%. A *Escherichia coli* e os Bolores foram os únicos parâmetros de análise que não apresentaram resultados “Não satisfatórios”, tendo mesmo o primeiro atingido os 100% de resultados “Satisfatórios”. Em termos de avaliação final das amostras, 95% das amostras foram classificadas como “Não satisfatórias”, ao passo que 2,50% tiveram resultados “Aceitáveis” e os restantes 2,50% foram “Satisfatórios”. Das amostras que obtiveram resultados “Não satisfatórios”, 32,50% foram-no por um parâmetro “Não satisfatório”; 30% foram-no por dois parâmetros; 12,50% foram-no por três parâmetros; 15% foram-no por quatro parâmetros; 5% por cinco parâmetros.

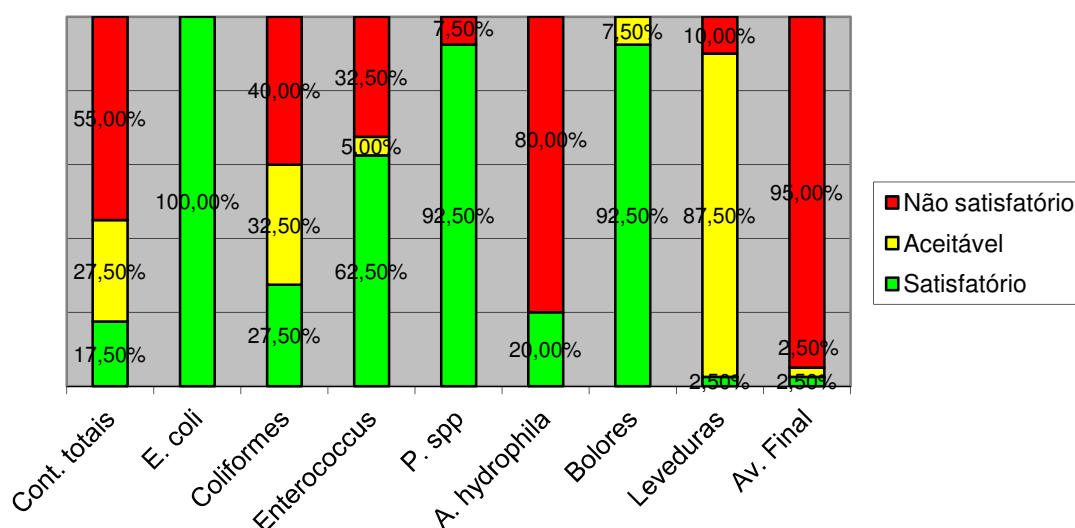


Gráfico 29 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras.

4.3.2 Avaliação da qualidade microbiológica da manga

Na avaliação microbiológica da manga laminada, ilustrada pelo gráfico 30, verifica-se que, tal como no todo das amostras, a *Aeromonas hydrophila* foi o microrganismo que mais contribuiu para a obtenção de resultados “Não satisfatórios”, com 100% das amostras “Não satisfatórias”, o que, conseqüentemente, leva a que todas as amostras de manga tenham uma avaliação microbiológica “Não satisfatória”. Em termos de contagens totais, 63,64% das amostras obtiveram resultados “Não satisfatórios”. Os coliformes totais, o *Enterococcus* e a *Pseudomonas spp.*, apresentaram também resultados “Não satisfatórios”, na ordem dos 27,27%, 9,09%, 9,09% e 18,18%,

respetivamente. Do total das amostras, 36,36% tiveram resultados “Não satisfatórios” por um parâmetro microbiológico, 45,45% obtiveram essa avaliação por dois parâmetros e 18,18% por três parâmetros.

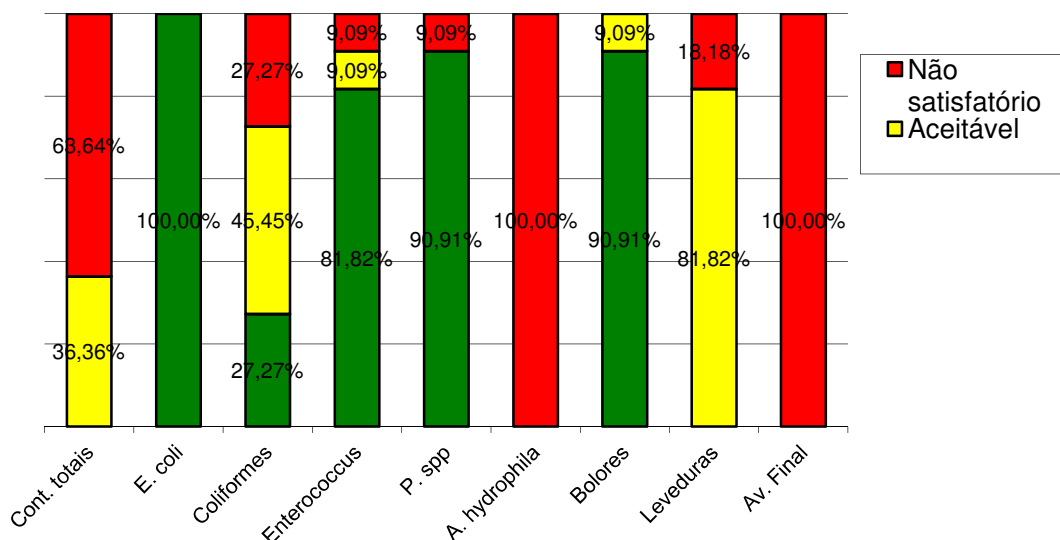


Gráfico 30 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras de manga.

4.3.3 Avaliação da qualidade microbiológica da salada Iceberg

Tal como o observado nas amostras de manga laminada, também as amostras de salada Iceberg foram “Não satisfatórias” na sua totalidade. Também neste produto a *Aeromonas hydrophila* foi o microrganismo que mais contribui para resultados microbiológicos “Não satisfatórios”, com 94,12% das amostras fora dos limites de aceitabilidade, seguido dos coliformes totais e dos *Enterococcus* com 64,71%, das contagens totais com 52,94%, as *Pseudomonas spp.*, e pelas leveduras com 5,88%. Do total das amostras, 36,36% foram avaliadas como “Não satisfatórias” pela obtenção de resultados “Não satisfatórios” num parâmetro, 45,45% em dois parâmetros e 18,18% em três parâmetros.

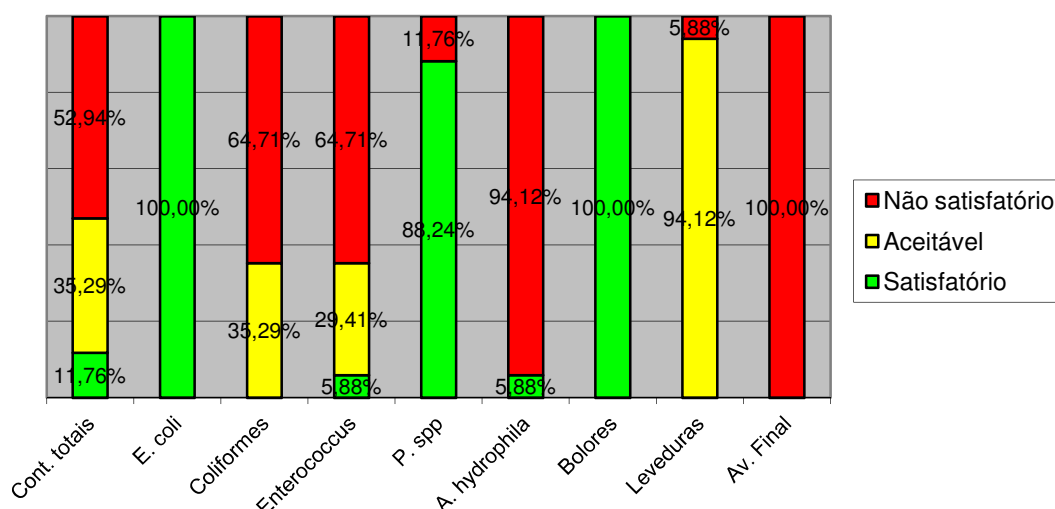


Gráfico 31 - Avaliação da qualidade microbiológica da salada Iceberg.

4.3.4 Avaliação da qualidade microbiológica do tomate laminado

Ao contrário das amostras dos outros produtos, apesar de uma elevada percentagem (83,33%) de resultados “Não satisfatórios”, 16, 66% das amostras tiveram uma avaliação final dentro dos limites de aceitabilidade, em que 8,33% consideradas “Aceitáveis” e as restantes 8,33% como “Satisfatórias”. As amostras que se consideraram como estando dentro dos limites de aceitação, correspondem a AI de tomate, contudo as amostras finais, correspondentes a estas, evoluíram para resultados “Não satisfatórios”, por contagens elevadas de *Aeromonas hydrophila* e de *Enterococcus*. Neste produto, 58,33% das amostras obtiveram resultados “Não satisfatórios” nas contagens de *Enterococcus*, 50% em contagens totais, tal como em contagens de *Aeromonas hydrophila*, 16,67% nas contagens de coliformes totais e 8,33% em contagens de leveduras. Das amostras não satisfatórias, 33,33% obtiveram esta avaliação por contagens elevadas num parâmetro, 25% por dois parâmetros, 8,33% por três, 8,33% por quatro e 8,33% por cinco parâmetros.

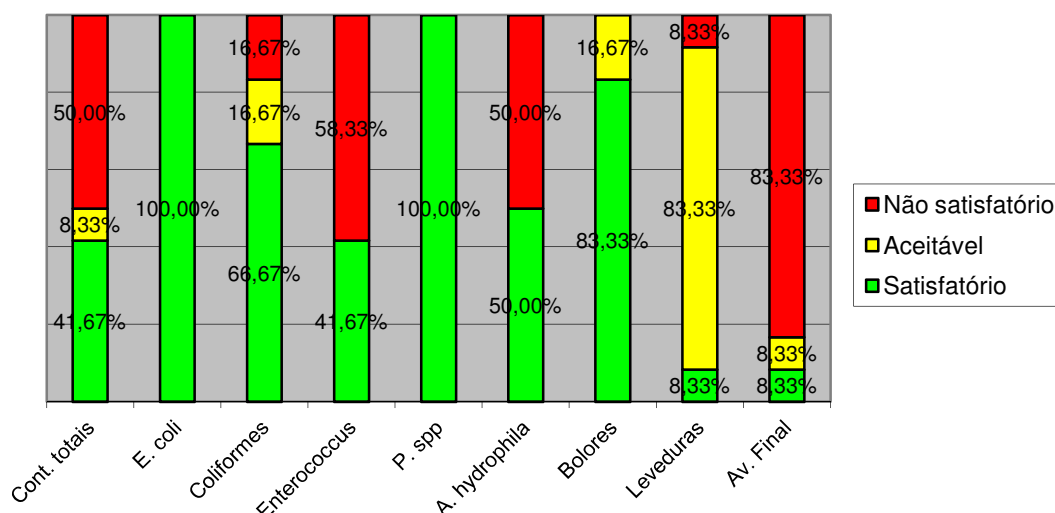


Gráfico 32 - Avaliação da qualidade microbiológica do tomate laminado.

4.4 Avaliação da qualidade microbiológica - microbiologia Preditiva

Apresentam-se os resultados obtidos na microbiologia preditiva, do universo amostral e para cada um dos produtos em estudo, em termos da avaliação da qualidade microbiológica dos mesmos.

4.4.1 Avaliação da qualidade microbiológica de todas as amostras

Pela análise do gráfico 33, verifica-se que pelos resultados obtidos no *Combase®* 76,92% das amostras analisadas foram “Satisfatórias” quando avaliadas pelo teor de *Pseudomonas spp.*, contrastando com a previsão de crescimento da *Aeromonas hydrophila* que obteve apenas 42,86% dos resultados como sendo “Satisfatórios”.

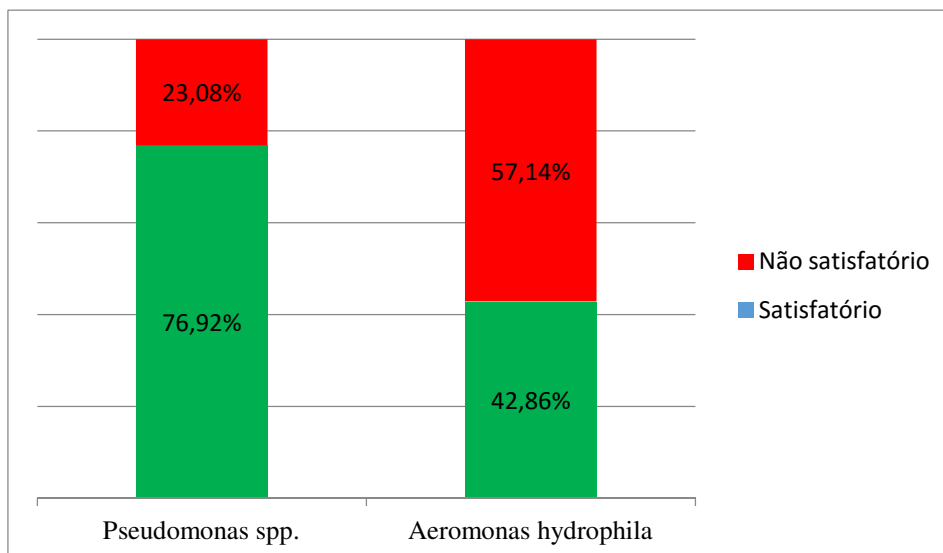


Gráfico 33 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras, conforme as previsões obtidas pelo Combase ®.

4.4.2 Avaliação da qualidade microbiológica da manga

Pela a análise do gráfico 34, verifica-se que todas as amostras de manga obtiveram resultados “Satisfatórios” em termos de teores de *Pseudomonas spp.* e “Não satisfatórios” em termos de *Aeromonas hydrophila*.

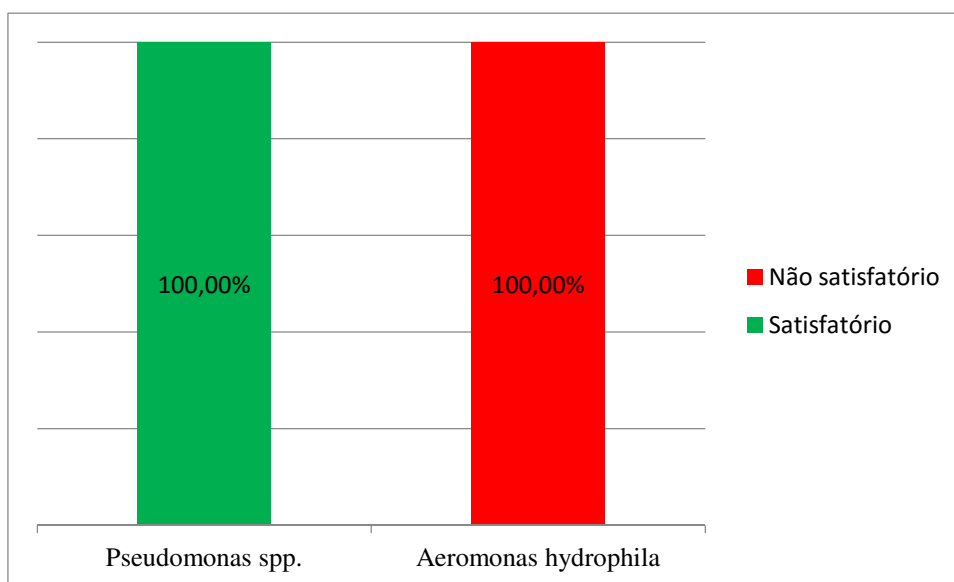


Gráfico 34 - Avaliação da qualidade microbiológica da manga, conforme as previsões obtidas pelo Combase ®.

4.4.3 Avaliação da qualidade microbiológica da salada Iceberg

Nas amostras de salada Iceberg, todas as amostras obtiveram resultados “Não satisfatórios” para *Aeromonas hydrophila*. Nos resultados obtidos para *Pseudomonas spp.* 44,44% das amostras obtiveram resultados “Satisfatórios” sendo as restantes, 55,56% “Não satisfatórias”.

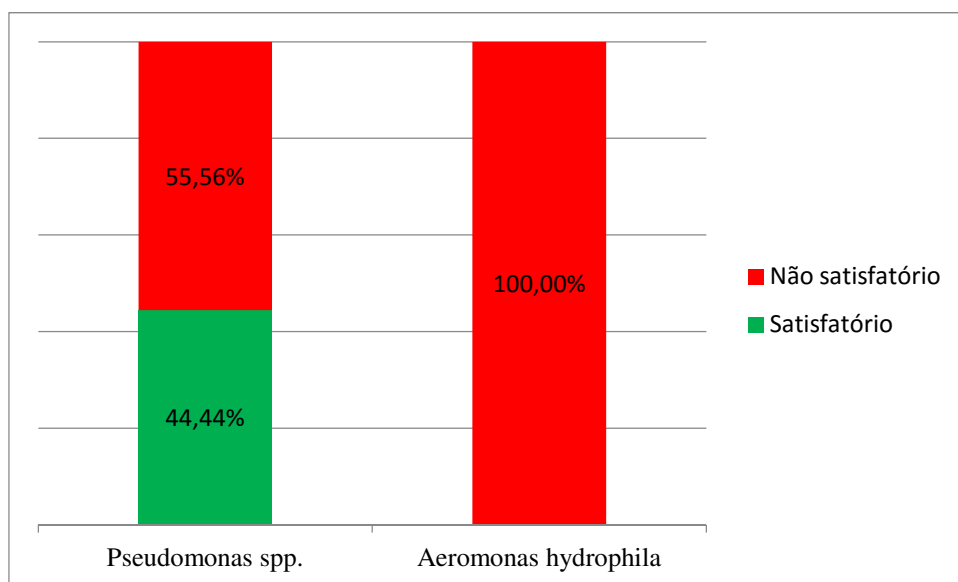


Gráfico 35 - Avaliação da qualidade microbiológica das amostras de salada Iceberg, conforme as previsões obtidas pelo Combase ®.

4.4.4 Avaliação da qualidade microbiológica do tomate laminado

Nos resultados obtidos no Combase®, todas as amostras de tomate obtiveram resultados satisfatórios para *Aeromonas hydrophila*. A grande maioria das amostras também obteve resultados satisfatórios em termos de *Pseudomonas spp.*, com apenas 11,11% das amostras com resultados não satisfatórios.

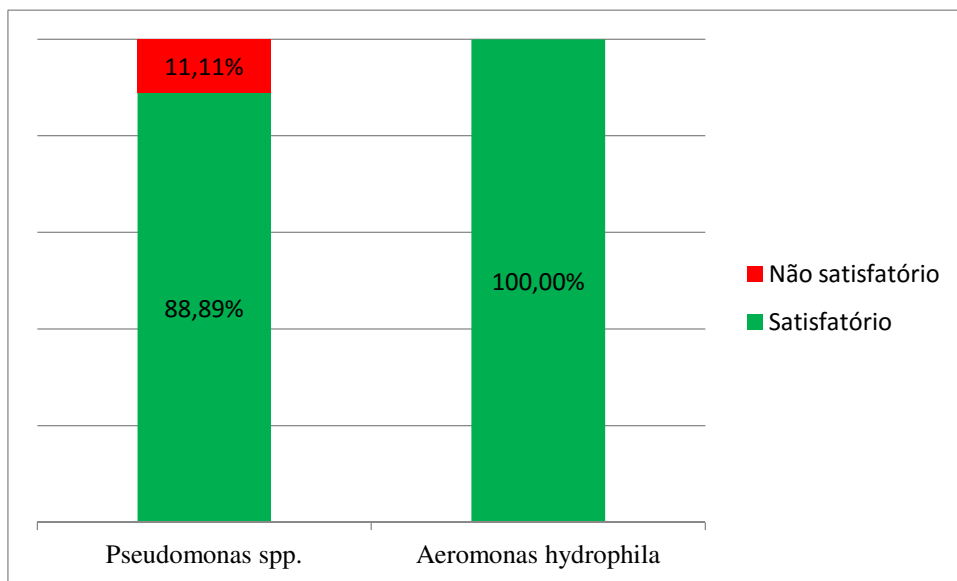


Gráfico 36 - Avaliação da qualidade microbiológica do tomate laminado, conforme as previsões obtidas pelo Combase ®.

4.5 Análise estatística dos resultados obtidos no Combase® com os obtidos em laboratório

Neste ponto do trabalho serão apresentados os resultados e medidas estatísticas obtidos na microbiologia clássica em comparação com os obtidos por Combase®.

Tabela 8- Comparação dos resultados obtidos em laboratório com os obtidos pelo Combase®, para cada amostra, e as respectivas medidas estatísticas.

	Amostra	<i>Pseudomonas spp.</i>			<i>Aeromonas hydrophila</i>		
		Laboratório	Combase	Diferença logarítmica (Laboratório-Combase)	Laboratório	Combase	Diferença logarítmica (Laboratório-Combase)
MANGA	2.1.2	5,76	3,36	2,40	-	-	-
	3.1.2	5,53	3,35	2,18	-	-	-
	4.1.2	6,46	3,4	3,06	-	-	-
	5.1.2	4,34	3,34	1,00	-	-	-
	7.1.2	5,51	6,34	-0,83	5,08	5,08	0,00
	8.1.2	4,56	6,59	-2,03	4,90	5,08	-0,18
	10.1.2	5,62	6,62	-1,00	3,46	5,08	-1,62
	11.1.2	5,23	6,59	-1,36	3,81	5,08	-1,27
	Média	5,38	4,95	0,43	4,31	5,08	-0,77
	Mediana	5,52	4,87	0,09	4,36	5,08	-0,73
	Desvio padrão	0,57	1,42	1,65	0,56	0,00	0,56
SALADA	15.2.2	4,57	6,21	-1,64	4,36	3,96	0,40
	17.2.2	5,04	7,29	-2,25	3,83	3,97	-0,14
	18.2.2	4,88	5,08	-0,20	4,43	3,96	0,47
	20.2.2	5,48	7,42	-1,94	3,90	3,93	-0,03
	21.2.2	5,62	7,57	-1,95	3,60	3,93	-0,33
	22.2.2	5,72	7,37	-1,65	4,49	3,93	0,56
	23.2.2	5,36	7,55	-2,19	3,20	3,93	-0,73
	37.2.2	6,00	5,08	0,92	5,11	3,08	2,03
	39.2.2	4,90	5,13	-0,23	4,26	-	-
	Média	5,29	6,52	-1,24	4,13	3,84	0,28
	Mediana	5,36	7,29	-1,65	4,26	3,93	0,19
	Desvio padrão	0,44	1,08	1,05	0,53	0,29	0,78
TOMATE	25.3.2	4,99	6,59	-1,60	4,70	1,00	3,70
	26.3.2	5,76	6,54	-0,78	4,46	1,00	3,46
	27.3.2	4,89	6,82	-1,93	4,34	1,00	3,34
	29.3.2	4,15	1,45	2,70	3,18	1,00	2,18
	30.3.2	3,00	1,44	1,56	2,54	1,00	1,54
	31.3.2	3,18	1,66	1,52	2,98	1,00	1,98
	33.3.2	5,04	1,68	3,36	1,00	1,00	0,00
	34.3.2	3,49	1,41	2,08	1,00	1,00	0,00
	35.3.2	3,78	1,38	2,40	1,00	1,00	0,00
	Média	4,25	3,22	1,03	2,80	1,00	1,80
	Mediana	4,15	1,66	1,56	2,98	1,00	1,98
	Desvio padrão	0,86	2,30	1,75	1,37	0,00	1,37

Pela análise comparativa dos resultados obtidos em laboratório e pelo *Combase*®, verifica-se que na manga, em *Pseudomonas spp.* 50% dos valores obtidos pelo *Combase*® eram superiores aos obtidos em laboratório, e os restantes inferiores. A média dos valores obtidos em laboratório foi de 5,38log/g enquanto no *Combase*® este valor foi de 4,95log/g, com uma diferença de 0,43log/g entre ambos. Em termos de mediana, a diferença é de 0,09log/g, com 5,52log/g para os valores de laboratório e 4,87log/g para os do *Combase*®. Ao passo que as médias e as medianas são muito próximas, no desvio padrão a diferença é superior aos do laboratório, o que significa que os resultados obtidos pelo programa foram mais variados e dispersos que os do laboratório.

No caso da previsão do crescimento de *Aeromonas hydrophila*, 75% dos resultados obtidos pelo *Combase*® foram superiores aos obtidos em laboratório, sendo os restantes iguais nas duas metodologias. A diferença das médias é de 0,77log/g, sendo a do *Combase*® superior com um valor de 5,08log/g, valor esse equivalente à mediana. A mediana dos valores obtidos em laboratório foi de 4,36log/g. Em termos de desvio padrão, pelo *Combase*® todos os valores são iguais, daí um desvio padrão de 0.

Na salada Iceberg 88,89% dos valores de *Pseudomonas spp.* são superiores no *Combase*®, e os restante inferiores. As médias das duas metodologias diferem em 1,24log/g, com 6,52log/g para o *Combase*® e 5,29log/g para os resultados de laboratório. A mediana dos resultados do *Combase*® é bastante superior à dos resultados de laboratório, com valores de 7,29 e 5,36log/g para cada um deles, respetivamente. O desvio padrão dos resultados do *Combase*® é bastante superior, representando uma maior dispersão entre os valores obtidos.

Nos valores obtidos para *Aeromonas hydrophila*, as diferenças são pequenas, em termos de medidas estatísticas. Os resultados do laboratório apresentam uma média de 4,13log/g, uma mediana de 4,26log/g e um desvio padrão de 0,53, sendo que no *Combase*® estes valores foram de 3,84log/g, 3,93log/g e 0,29, respetivamente. Contudo, aquando a comparação individual dos resultados obtidos, verificou-se que, para este parâmetro, 50% dos resultados do *Combase*® são superiores aos laboratoriais, e os restantes inferiores.

No tomate, as medidas estatísticas obtidas são mais díspares em ambos os parâmetros. Nos resultados de *Pseudomonas spp.* o *Combase*® obteve uma média de 3,22log/g, 1,03log/g abaixo da obtida pelos resultados de laboratório. A mediana entre ambos difere 1,56log/g, sendo a do *Combase*® igual a 1,66log/g e a dos resultados de

laboratório de 4,15log/g. Em termos de desvios padrão, o *Combase*® apresenta um valor bastante mais elevado, de 2,30. Na análise deste parâmetro, 33,33% das amostras obtiveram resultados superiores no *Combase*® e as restantes inferiores.

No parâmetro *Aeromonas hydrophila* a média e mediana, dos resultados do *Combase*®, foram 1,0log/g, com uma diferença de 1,80log/g e 1,98log/g, respetivamente, para os resultados laboratoriais. O desvio padrão dos resultados de laboratório foi bastante superior ao obtido no *Combase*®.

Tabela 9 - Comparação e medidas estatísticas dos resultados obtidos em laboratório e pelo *Combase*® para o total das amostras.

	<i>Pseudomonas spp.</i>		<i>Aeromonas hydrophila</i>	
	Laboratório	Combase®	Laboratório	Combase®
Mínimo	3,00	1,38	1,00	1,00
Máximo	6,46	7,57	5,11	5,08
Média	4,96	4,89	3,62	2,86
Desvio padrão	0,86	2,26	1,23	1,68

Para *Pseudomonas spp.* os resultados obtidos no programa de Microbiologia preditiva, *Combase*®, obtiveram valores máximos na ordem dos 7,57log/g e um valor mínimo de 1,38log/g, com uma média de 4,89log/g. Em laboratório foi obtido um valor máximo de 6,46log/g, um mínimo de 3,0log/g e uma média de 5,06log/g, conforme o ilustrado no Gráfico 37. Observa-se assim, que os valores obtidos em laboratório foram superiores aos obtidos pelo *Combase*®, em termos de valor máximo e de desvio padrão, com uma diferença de 1,11log/g e 1,4, respetivamente, uma vez que o desvio padrão dos valores obtidos pelo *Combase*® é de 2,26, enquanto que o dos resultados obtidos em laboratório é de 0,86. A média e valor mínimo obtidos no *Combase*® foram inferiores aos obtidos em laboratório, com uma diferença de 0,07log/g para a média e 1,62log/g para o valor mínimo.

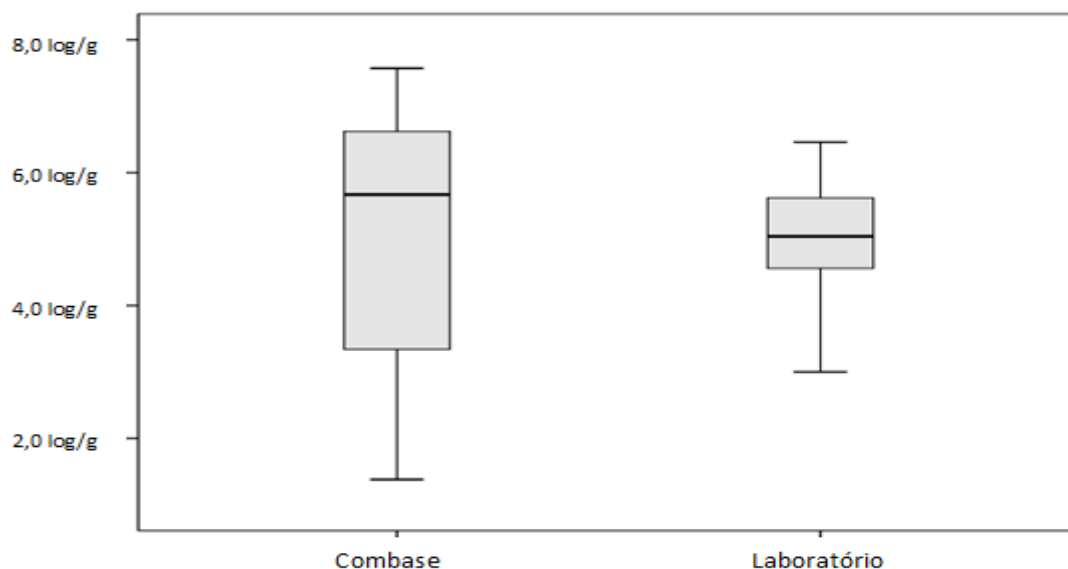


Gráfico 37- Resultados de *Pseudomonas* spp. obtidos no laboratório e no Combase®.

O Gráfico 38 ilustra a correlação existente entre os valores obtidos em laboratório e os obtidos no Combase®, onde se verifica uma recta de regressão linear de 0,348, o que indica uma relação linear entre os diferentes valores.

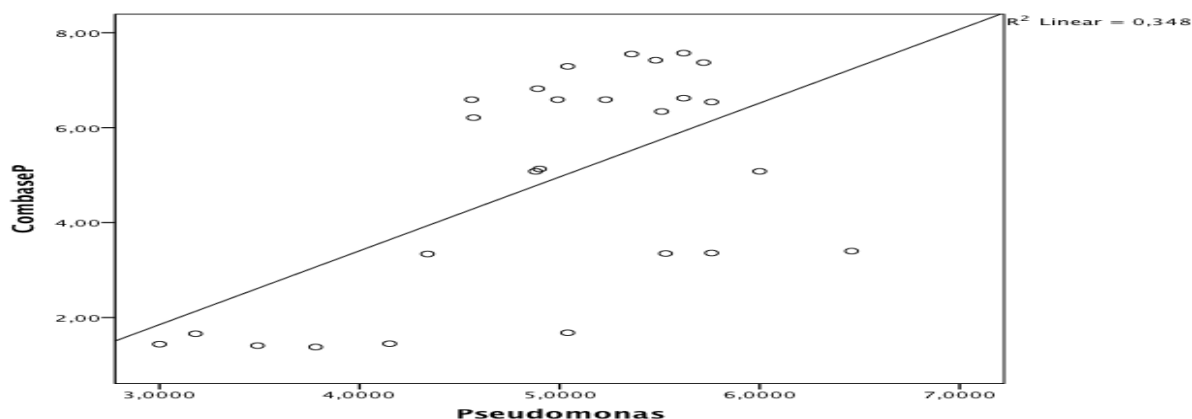


Gráfico 38 - Dispersão e correlação dos valores de *Pseudomonas* spp. obtidos em laboratório e no Combase®.

Para as *Aeromonas hydrophila* obtiveram-se valores máximos na ordem dos 5,08/g e um valor mínimo de 1,0log/g, com uma média de 2,86log/g. Em laboratório foi obtido um valor máximo de 5,11log/g, um mínimo de 1,0log/g e uma média de 3,62log/g, conforme o ilustrado no Gráfico 39. Observa-se assim, que os valores obtidos em laboratório foram superiores aos obtidos pelo Combase® com uma diferença de 0,03log/g em termos de valor máximo e uma diferença de 0,76log/g para os valores de

média. Em termos de desvio padrão, os valores obtidos pelo *Combase*® apresentam um desvio padrão de 1,68, enquanto que os resultados obtidos em laboratório apresentam um desvio padrão de 1,23.

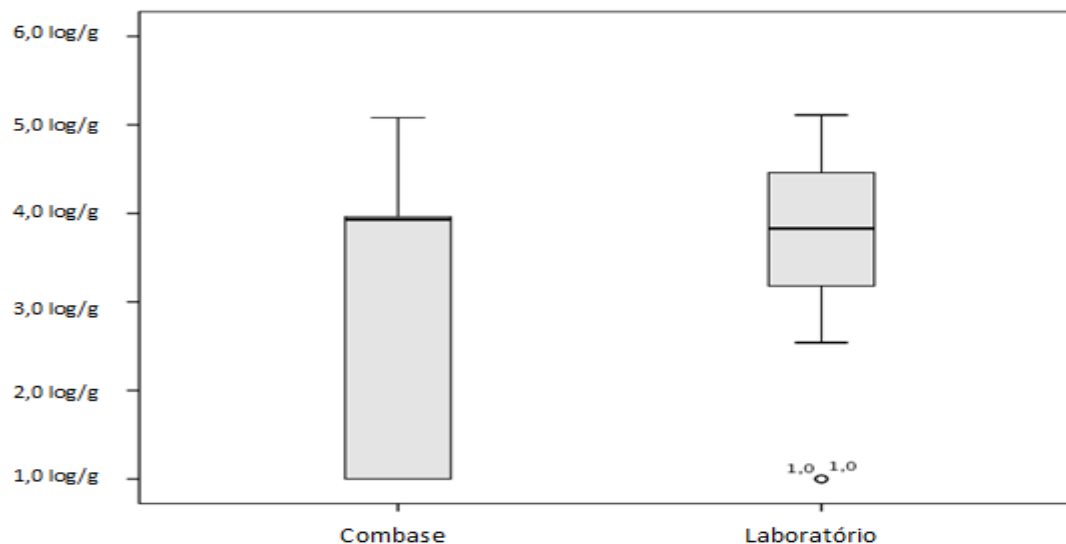


Gráfico 39 - Resultados de *Aeromonas hydrophila* obtidos no laboratório e no *Combase*®.

O Gráfico 40 ilustra a correlação existente entre os valores obtidos em laboratório e os obtidos no *Combase*®, onde se verifica uma reta de regressão linear de 0,268, o que indica uma relação linear entre os diferentes valores.

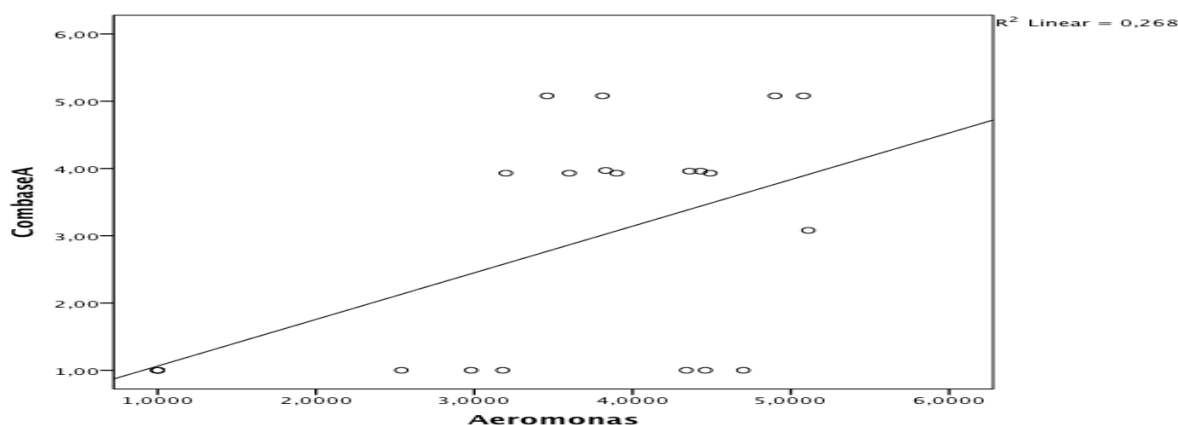


Gráfico 40 - Dispersão e correlação dos valores de *Aeromonas hydrophila* obtidos em laboratório e no *Combase*®.

5. Discussão de resultados

Primeiramente, torna-se importante referir que no decorrer deste trabalho ocorreram problemas do ponto de vista da amostragem. Tal como já fora atrás referido, pretendia-se, para cada amostra inicial, obterem-se cinco amostras finais, contudo, muitas foram as dificuldades encontradas, com o desaparecimento de amostras durante a expedição para as unidades de restauração. Estes contratempos implicaram o desaparecimento de alguns dos *data loggers* disponíveis para este trabalho. Com o desaparecimento do equipamento, tornou-se impossível proceder ao acompanhamento de cinco amostras finais, uma vez que se terminou o trabalho experimental com apenas um data logger. Desta forma, a amostragem ficou comprometida na medida que o tempo despendido entre as colheitas era maior, uma vez que não podiam decorrer em simultâneo, não sendo assim possível manter o plano de amostragem definido inicialmente.

Quanto à evolução da qualidade microbiológica das amostras, das onze AI apenas duas apresentaram resultados dentro dos limites de aceitabilidade, ambas de tomate laminado, o equivalente a 5% do total das amostras. Todas as amostras finais apresentaram uma avaliação global de “Não satisfatórias”. O número de parâmetros microbiológicos com resultados “Não satisfatórios”, variaram entre um a cinco, nas diferentes amostras. Destas 32,5% obtiveram resultados NS num parâmetro, dos quais, 30,77% correspondiam a amostras de manga, 38,46% a amostras de salada Iceberg e 30,77% a amostras de tomate laminado. Em 30% das amostras a avaliação de NS deveu-se a dois parâmetros, sendo 41,67% das amostras de manga, 33,33% de salada Iceberg e 25% de tomate laminado. Por três parâmetros, 12,50% das amostras foram NS, das quais 40% amostras de manga, 40% de salada Iceberg e 20% de tomate laminado.

Do total das amostras, 15% tiveram quatro parâmetros com classificação NS, das quais 83,33% correspondiam a amostras de salada Iceberg e as restantes a amostras de tomate laminado. Duas das amostras, equivalente a 5% das amostras totais, tiveram resultados NS em cinco dos parâmetros analisados, sendo que destas 50% correspondiam a amostras de salada Iceberg e os restantes a tomate laminado.

Fazendo esta análise por produto, verificou-se que nas amostras de tomate 33,33% obtiveram resultados NS num parâmetro, 25% em dois, 8,33% para três, para quatro e para cinco. Sendo que os microrganismos que mais se destacaram com resultados NS foram *Enterococcus* (58%), Contagens totais (50%) e *Aeromonas hydrophila* (50%). Nas amostras de salada Iceberg, 29,41% obtiveram resultados NS por um parâmetro, 29,41% por quatro, 23,53% por dois, 11,76% por três e 5,88% por cinco parâmetros. Do total destas amostras 94% foram avaliadas como NS por *Aeromonas hydrophila*, 65% por coliformes totais e 53% por contagens totais. Relativamente à manga, 45,45% das amostras obtiveram resultados NS em dois parâmetros, 36,36% por um e 18,18% por três. Os microrganismos com maior percentagem de resultados NS, na manga, são contagens totais (64%), *Aeromonas hydrophila* (55%) e coliformes totais (27%).

Assim, verificou-se que no tomate a maioria dos resultados NS deveu-se a dois ou mais parâmetros, sendo o *Enterococcus* o agente com maior percentagem de resultados NS. Relativamente à manga e à salada Iceberg, o agente com maior índice de resultados NS foi a *Aeromonas hydrophila*. A maioria das amostras de manga foram NS por dois parâmetros, ao passo que as da salada Iceberg foram-no por três a mais parâmetros.

Pela análise dos resultados obtidos para contagens totais, verificou-se que os resultados evoluíram conforme o expectável, com as contagens finais superiores às iniciais. Do total das amostras, 55%, atingiu valores “Não satisfatórios”, verificando-se que nestas se incluem AI de manga e de salada Iceberg. O facto de as AI apresentarem parâmetros microbiológicos NS, revela falhas ou uma deficiente aplicação das boas práticas agrícolas e / ou de fabrico, pois apesar da microbiota variável e complexa que estes produtos apresentam *per si*, enquanto matéria-prima, esta poderá ser aumentada durante o processamento. Amostras com elevadas contagens iniciais são indicativas de produtos de baixa qualidade, tal como com menor tempo de vida útil que, consequentemente, se refletirão em perdas económicas para os intervenientes no circuito.

Os resultados obtidos para contagens totais compreendem-se entre 2,34 e 8,76log/g, com uma média de 5,82log/g, com um valor de desvio padrão de 1,56, apontando para uma heterogeneidade amostral. Esta heterogeneidade poderá ser reflexo do tamanho da amostra, mas também poderá refletir uma desigual distribuição da carga microbiana e a ineficácia dos procedimentos de lavagem e desinfecção.

Quanto aos resultados, estes são muito semelhantes aos obtidos noutros estudos similares. Num estudo realizado em Portugal a produtos minimamente processados (Santos, et al., 2012) os resultados para contagens totais variaram entre os 4,65 e 8,48log/g com valores de média compreendidos entre os 6,2 e os 6,5log/g. No estudo de Valentin-Bon, et al. (2008), os resultados compreendiam-se entre os 4,5 e os 7,9log/g, com uma média de 7,0log/g. Soriano, et al. (2000) obtiveram resultados situados entre os 3,01 e 7,81log/g, com uma média de 5,82log/g.

Também em termos dos teores de coliformes totais nas amostras, os resultados evoluíram conforme o expectável, exceto nas amostras de manga, em que se obteve uma maior percentagem nas AI NS (50%) do que nas AF (22,22%). As AI de manga apresentaram também um maior valor de desvio padrão (3,46) comparativamente às AF (1,59), indicativo de heterogeneidade da amostra, possivelmente, consequência do tamanho da amostra e por fatores inerentes ao processo, como o descasque. Ao contrário dos restantes produtos em estudo, a manga é descascada antes de laminada, processo esse que poderá ser o motivo de uma desigual distribuição da carga microbiana no produto.

A salada Iceberg apresentou 33,33% de valores NS nas AI, de onde se poderá depreender que houve falhas ao nível da produção, nomeadamente nas operações de lavagem e desinfeção da matéria-prima e / ou do equipamento que poderá ter contaminado o produto *a posteriori*. O tomate foi o único produto cujas AI obtiveram uma avaliação S na sua totalidade. Sendo o tomate um produto que não está em contacto com o solo, é expectável uma menor carga microbiana do que, por comparação, a salada Iceberg cuja matéria-prima, alface, encontra-se mais perto do solo. O tomate apresenta ainda uma maior homogeneidade nas AI (DV 0,52) do que nas AF (DV 1,56), valor este que poderá ser explicado pelas diferentes condições de armazenagem a que os produtos estiveram sujeitos, nomeadamente a temperaturas superiores à de refrigeração.

Do total das amostras, 40% foram classificadas como NS em termos de teores de coliformes totais. Tal como já fora atrás referido, esta avaliação poderá ser resultado de um deficiente processo de higienização da matéria-prima e / ou dos equipamentos

implicados no processamento. Comparativamente com outros trabalhos realizados neste tipo de produtos, verificou-se que os resultados obtidos, compreendidos entre 1,0log/g e 6,28log/g eram bastante superiores aos de estudos semelhantes. Valentin-Bom, et al. (2008) obteve resultados que variaram entre 0,47 e 4,0log/g para coliformes totais, valores aproximados aos obtidos por Soriano, et al. (2000), compreendidos entre os 0,47 e os 3,38log/g.

Quanto a *Enterococcus spp.*, as AI de manga apresentaram valores bastante mais elevados que as correspondentes AF, verificando-se mortalidade do microorganismo. Esta mortalidade poderá ser explicada pelo aumento de uma outra população microbiana, como de Coliformes totais, uma vez que se verificou na manga um elevado teor de contaminação por estes microrganismos. Contudo, estudos apontam este fruto como tendo propriedades antimicrobianas, eficazes na diminuição dos teores de *Enterococcus* em biofilmes (Subbiya, et al., 2013). Apesar de, no total das amostras, apenas 33% se classificarem como NS, todos os produtos apresentaram AI com valores NS (Manga – 50%; Salada Iceberg – 16,67%; Tomate – 38,33%), apontando, mais uma vez, para falhas durante o processo tecnológico. Um estudo realizado pela *Consumer Reports Magazine*, de Março de 2010, em que se avaliou a qualidade microbiológica de saladas embaladas, refere 23% das amostras como NS. Num outro estudo, realizado por Temelli *et al*, (2005) em que se analisou a qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer, entre eles saladas, o teor de *Enterococcus* compreendia-se entre 4 e os 5log/g. Em termos de valor máximo, corresponde ao obtido no estudo aqui desenvolvido, ao contrário do valor mínimo bastante mais elevado que o obtido neste estudo.

Nenhuma das amostras se revelou NS para bolores, sendo que 92% foram S e 8% A, estando os resultados compreendidos entre 1,0 e 2,7log/g. Com exceção de uma amostra, todas as amostras finais apresentaram um teor de bolores $\leq 1,0\text{log/g}$, com 100% de resultados S. Por outro lado, o teor de leveduras nas amostras finais foi bastante superior ao das AI. 10% das amostras obtiveram resultados NS, correspondentes a AF dos diferentes produtos (Manga – 22,22%; Salada Iceberg – 9,09%; Tomate – 11,11%). Os resultados obtidos compreendiam-se entre os 1,7 e os 5,82log/g. No estudo realizado por Temelli *et al*, (2005), os teores obtidos para fungos compreendiam-se entre os 4,0 e os 5,0log/g. No estudo de Oranusi & Braide (2012), em que se avaliou a qualidade microbiológica de produtos prontos a comer vendidos em autoestradas, os valores

obtidos para fungos situaram-se entre os 1,0 e os 6,26log/g, valores estes muito próximos aos obtidos para leveduras neste estudo.

Tanto as AI como as AF apresentaram elevados valores para *Pseudomonas spp.*, contudo apenas 8% das amostras obtiveram resultados NS, resultados esses que correspondiam a amostras finais de manga (11,11% das AF) e de salada Iceberg (18,18% das AF). O produto que melhores resultados obteve foi o tomate laminado, com todas as amostras S. No estudo realizado por Oliveira, et al. (2011), a média obtida para contagens de *Pseudomonas spp.* foi de 7,1log/g, bastante superior à média obtida com os resultados deste trabalho, de 4,81log/g. Resultados também bastante superiores foram obtidos num estudo que avaliava a qualidade microbiológica em vegetais minimamente processados, realizado no Brasil (Silva, et al., 2007), em que as médias obtidas situavam-se entre 6,9 e os 8,43 log/g.

De modo geral, todos os produtos apresentaram contagens elevadas de *Aeromonas hydrophila*, sendo que do total das amostras 80% classificaram-se como NS. Todas as amostras de manga, AI e AF, foram NS, tal como as AI de salada Iceberg. As AI de tomate foram as únicas que obtiveram resultados S. Num estudo realizado em Portugal a produtos minimamente processados (Santos, et al., 2012) os resultados para contagens de *Aeromonas hydrophila* situam-se entre os 3,15 e os 5,18log/g. Em termos de valor máximo não se afasta muito do obtido neste estudo, em termos de mínimo já existe uma diferença de 2,15log/g.

Em termos de avaliação global da qualidade microbiológica dos produtos, verificou-se que a totalidade das amostras de manga e de salada Iceberg estavam fora dos valores de aceitabilidade, ou seja, todas as amostras eram NS, enquanto no tomate 83,34% das amostras foram avaliadas como NS, e as restantes 16,66%, correspondentes a AI, estavam dentro dos valores de aceitabilidade (8,33% A e 8,33% S),

Os resultados obtidos neste trabalho, muito semelhantes aos obtidos em trabalhos similares, indicam-nos que estes tipos de produtos apresentam uma qualidade microbiológica deficiente, o que evidencia a possibilidade de se tornarem veículos de transmissão de agentes patogénicos, representando um risco potencial para consumidor. Os valores elevados que se obtiveram foram-no certamente por um conjunto de fatores

que funcionou de forma cumulativa, como deficientes práticas agrícolas e de fabrico. A presença de coliformes nos produtos, indica uma manipulação inadequada durante o processamento, como uma deficiente higienização da matéria-prima e dos equipamentos utilizados.

A presença de *Enterococcus* indica a possibilidade de ter ocorrido contaminação fecal dos produtos, por utilização de fertilizante biológico ou por contaminação das águas de irrigação aquando o cultivo. Sendo o género *Enterococcus* um importante indicador da presença do vírus da Hepatite A, torna-se de extrema importância um controlo apertado quanto à sua presença neste tipo de produtos. Tal como como os coliformes, também a *Pseudomonas spp.* indica um deficiente controlo das práticas sanitárias, nomeadamente ao nível da desinfecção e centrifugação. As bactérias do género *Pseudomonas* são as mais comumente associadas à degradação de produtos vegetais refrigerados, principalmente quando estes são conservados na presença de oxigénio e expostos a temperaturas entre os 10 - 20°C (Academic Press, 2014). De realçar que, tendo em conta os teores de contaminação encontrados nas diferentes AI, o corte do produto, aquando o seu processamento, favorece o crescimento microbiano, uma vez que permite a libertação de exsudado rico em água, nutrientes e minerais necessários ao desenvolvimento microbiano.

Em suma, verificou-se que a maioria dos produtos analisados denuncia uma deficiente qualidade microbiológica. Este aspeto é indicativo de que se devem adotar práticas de higiene mais apertadas, tanto por parte dos produtores como dos consumidores, que minimizem o potencial risco da transmissão de agentes patogénicos por via destes produtos, tal como um controlo rigoroso da rede de frio a que os mesmos são expostos.

Deverão ser implementadas e controladas, de forma rigorosa, boas práticas agrícolas e de fabrico, passando por um controlo das condições higiosanitárias a que o produto está sujeito, do cultivo à expedição da fábrica. Os fertilizantes biológicos deverão ser preteridos, pela sua elevada contaminação por agentes de origem fecal, e a água de irrigação deverá ser controlada do ponto de vista microbiológico.

A implementação das boas práticas agrícolas, para além da redução das possíveis contaminações microbiológicas, levará também a uma diminuição dos danos que

possam ocorrer nos tecidos vegetais, danos esses que para além de poderem contaminar o interior dos produtos, diminuem o tempo de vida útil dos mesmos. Com a implementação de boas práticas de fabrico garante-se um produto com qualidade microbiológica superior.

Ao comparar-se os resultados obtidos por metodologia clássica com os da microbiologia preditiva, verifica-se que na manga o programa apresenta resultados iguais ou superiores para *Aeromonas hydrophila*, enquanto que para *Pseudomonas spp.* 50% dos resultados são superiores e os restantes inferiores. Não sendo assim possível concluir quanto à aplicabilidade do programa para este parâmetro neste produto. No caso da salada Iceberg, 88,89% dos resultados foram superiores aos do laboratório, para *Pseudomonas spp.*, e 50% superiores e 50% inferiores para *Aeromonas hydrophila*. No tomate a percentagem de valores superiores foi menor, com apenas 33,33%, para *Pseudomonas spp.*, e igual percentagem com valores iguais aos do laboratório para *Aeromonas hydrophila*. Apesar do reduzido número de amostras, relativas a cada um dos produtos, verifica-se uma melhor adequação do programa para a projeção do crescimento de *Pseudomonas spp.* em saladas, podendo isto dever-se às características intrínsecas do produto. No tomate, denota-se uma fraca capacidade de projeção, enquanto na manga, tal como já fora referido, seria necessário um maior número de amostras para se conseguir retirar conclusões mais consistentes.

No decorrer deste trabalho explorou-se a adaptabilidade e a vertente prática tipo de programas. Para os produtos em estudo, verificou-se que os intervalos de aW e pH parametrizados no programa são muito limitativos, sendo estes superiores aos dos produtos. Também a entrada das informações de temperatura é limitada a 100 registos, logo, tendo em conta que se obtiveram registos de temperatura durante um máximo de cinco dias, de cinco em cinco minutos, para cada amostra, estes tiveram que ser reduzidos a 100 entradas para que se pudessem utilizar no programa. Posto isto, poder-se-á apenas retirar inferências quanto ao comportamento dum programa deste género. Os dados obtidos revelam existir uma relação entre os dois métodos, mas por todas estas limitações, tanto a nível do programa como da amostra, estes resultados são apenas indicativos de uma tendência, tendência essa que poderia ser completamente alterada se o número de amostras fosse superior e, sobretudo se os valores de aW e pH correspondessem aos constantes no programa.

6. Conclusões

A grande maioria dos produtos analisados evidencia uma deficiente qualidade microbiológica, mesmo antes de seguirem para a cadeia de distribuição, sendo que todas as AI de manga e de salada Iceberg apresentaram resultados NS, resultante da contaminação por *Aeromonas hydrophila*. No tomate, a AI com resultados NS deveu-se ao elevado teor de *Enterococcus*, indicativo de que o processo de lavagem e desinfecção não foi eficaz.

Em termos de evolução da qualidade microbiológica dos produtos, verificou-se que todos evoluíram negativamente, apresentando resultados NS findo o seu tempo de vida útil. Estes resultados revelam problemas associados ao circuito de distribuição e de armazenagem, nomeadamente temperatura. Por isso, dever-se-á apostar na monitorização das temperaturas ou na diminuição do tempo de vida útil do produto.

Os elevados teores de carga microbiana, como *Aeromonas hydrophila*, coliformes totais, *Enterococcus* e contagens totais, denunciam falhas evidentes ao nível dos processos de lavagem e desinfecção. Os respetivos procedimentos deverão ser revistos e testados quanto ao desinfetante a utilizar, a concentração necessária e o tempo de contacto.

Conclui-se que, quanto à aplicabilidade do *Combase*® esta é limitada pelas características de parametrização e de adequação. Observando-se no entanto uma aplicabilidade superior em salada Iceberg e manga para *Pseudomonas spp.*.

As retas de relação linear corroboram os dados obtidos. Contudo, verifica-se que o valor das retas é muito baixo, indicando uma relação linear fraca, devido ao reduzido número de amostras. Com um maior número de amostras os resultados teriam um maior significado estatístico, podendo atestar ou não as conclusões aqui apresentadas.

Pelos resultados obtidos verifica-se que este tipo de produtos deverá ser sujeito a um controlo de qualidade mais rigoroso, de modo a que tenhamos no mercado de consumo produtos com valores microbiológicos dentro do valor de aceitabilidade e que os mesmos sejam mantidos durante o tempo de vida útil estabelecido.

Com base nos teores de contaminação encontrados nas AI, estes produtos não se poderão considerar como prontos a consumir. De frisar ainda, que apesar de nos termos cingido a parâmetros microbiológicos de qualidade, os teores de contaminação encontrados, indicam a necessidade de acompanhamento destes produtos em termos de parâmetros de segurança microbiológica.

Os estudos nesta área são cada vez mais importantes e justificados pelo crescente interesse público nos produtos IV Gama. Os resultados apontam para uma qualidade microbiológica aquém da esperada. Sendo do interesse de todos os envolvidos (produtores, revendedores e consumidores) que se desenvolvam mais trabalhos deste género de modo a verificar a repetibilidade das tendências apontadas no presente estudo.

Relativamente à microbiologia preditiva, esta poderá ser uma “ferramenta” útil para a segurança alimentar e para os diferentes intervenientes da mesma. No entanto, a sua aplicabilidade implicará mais estudos, que permitam uma efetiva aplicação para a realidade.

7. Bibliografia

Academic Press, 2014. *Encyclopedia of Food Safety*. 1ª ed. s.l.:Elsevier.

Baranyi, J. & Roberts, T. A., 1995. Mathematics of predictive food microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, Julho, 26(2), pp. 199-218.

Baranyi, J. & Tamplin, M., 2004. ComBase: a common database on microbial responses to food environments. *Journal of Food Protection*, Setembro, 67(9), pp. 1967-1971.

Beirão-da-Costa, S. et al., 2008. The effect of calcium dips combined with mild heating of whole kiwifruit for fruit slices quality maintenance. *Food Chemistry*, Volume 108, pp. 191-197.

Beirão-da-Costa, S., Empis, J. & Moldão-Martins, M., 2014. Fresh-Cut Kiwifruit Structure and Firmness as Affected by Heat Pre-treatments and Post-cut Calcium Dips. *Food and Bioprocess Technology*, Abril, 7(4), pp. 1128-1136.

Beirão-da-Costa, S. et al., 2014. Alternative Sanitizing Methods to Ensure Safety and Quality of Fresh-Cut Kiwifruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, Fevereiro, 38(1), pp. 1-10.

Beirão-da-Costa, S. et al., 2006. Effects of maturity stage and mild heat treatments on quality of minimally processed kiwifruit. *Journal of Food Engineering*, Volume 76, pp. 616-625.

Beirão-da-Costa, S. et al., 2008. Influence of moderate heat pre- treatments on physical and chemical characteristics of kiwifruit slices. *European Food Research and Technology*, Volume 226, pp. 641-651.

Chun, H.-H., Kim, J.-Y. & Song, K. B., 2010. Inactivation of foodborne pathogens in ready-to-eat salad using UV-C irradiation. *Food Science and Biotechnology*, Abril, 19(2), pp. 547-551.

Dias, P., 2007. *Hipersuper*. [Online] Available at: http://www.hipersuper.pt/2007/03/30/tempo_de_balan_o_Mercado_de_V/ [Acedido em 2012].

Dris, R. & Jain, S. M., 2004. *Quality Handling and Evaluation: Volume 3: Quality Handling and Evaluation*. s.l.:Springer Science & Business Media.

Huxsoll, C. & Bolin, H., 1989. Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, Volume 43, pp. 124-128.

ICMSF, 2005. *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*. 2 ed. Nova Iorque: Kluwer Academic / Plenum Publishers.

Institut Pasteur de Lille, 1993. *Technologie et Microbiologie des Jus de Fruit*. s.l.:s.n.

Jay, J. M., 2000. *Modern Food Microbiology*. 6ª ed. Maryland(Gaithersburg): Aspen Publishers, Inc..

Jevsnik, M., Hlebec, V. & Raspor, P., 2008. Consumers awareness of food safety from shopping to eating. *Food Control*, Volume 19, pp. 737-745.

Jiang, X., Morgan, J. & P. Doyle, M. P., 2002. Fate of Escherichia coli O157:H7 in Manure-Amended Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, Maio, 68(5), pp. 2605-2609.

Jongen, W., 2005. *Improving the Safety of Fresh Fruit and Vegetables*. s.l.:CRC Press.

Jorge, V., 2006. *Hipersuper*. [Online]
Available at: http://www.hipersuper.pt/2006/02/17/Gama_preparada_em_expans_o/
[Acedido em 2012].

Lambert, J. L., Batalha, M. O., Sproesser, R. L. & Lucchese, T., 2005. As principais evoluções dos comportamentos alimentares: o caso da França. *Revista de Nutrição*, pp. 577-591.

Lamikanra, O., 2002. *Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market*. s.l.:CRC Press.

Lamikanra, O., 2002. *Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market*. s.l.:CRC Press.

Marks, B. P., 2008. Status of Microbial Modeling in Food Process Models. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Volume 7, pp. 137-143.

Martins, M. M. & Empis, J., s.d. *Sociedade Portuguesa de Inovação*. [Online]
Available at:
<http://www2.spi.pt/documents/books/hortofruticolas/Wcd30537ea0409.asp>
[Acedido em Agosto 2015].

McMahon, M. A. S. & Wilson, I. G., 2001. The occurrence of enteric pathogens and Aeromonas species in organic vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, Volume 70, pp. 155-162.

McMeekin, T. A., 2007. Predictive microbiology: Quantitative science delivering quantifiable benefits to the meat industry and other food industries. *Meat Science*, Volume 77, pp. 17-27.

Oliveira, M. A. d., Souza, V. M. d., Bergamini, A. M. M. & Martinis, E. C. P. d., 2011. Microbiology quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Food Control*, Volume 22, pp. 1400-1403.

Oranusi, S. & Braide, W., 2012. A study of microbial safety of ready-to-eat foods vended on highways. *Research Journal of Microbiology*, 3(2), pp. 66-71.

Pinheiro, N. M. et al., 2005. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de Fortaleza. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Abril, 27(1), pp. 153-156.

Ray, B. & Bhunia, A., 2013. *Fundamental Food Microbiology*. 5^a ed. s.l.:CRC Press.

Santos, M. I. et al., 2012. Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. *Food Control*, Volume 23, pp. 275-281.

Santos, M. I. et al., 2012. Evaluation of Minimally Processed Salads Commercialized in Portugal. *Food Control*, Volume 23, pp. 275-281.

Silva, S. R. P. d. et al., 2007. Microbiological Quality of Minimally Processed Vegetables Sold in Porto Alegre, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, Volume 38, pp. 594-598.

Silva, S. R. P. et al., 2007. Microbiology quality of minimally processed vegetables sold in Porto Alegre, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, Volume 38, pp. 594-598.

Smanioto, T. F., Pirolo, N. J., Simionato, E. M. R. S. & Arruda, M. C. d., 2009. Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas. *Rev Inst Adolfo Lutz*, Volume 68(1), pp. 150-154.

Soriano, J. M., Rico, H., Moltó, J. C. & Tauxe, R. V., 2000. Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in university restaurants. *International Journal of Food Microbiology*, 30 Junho, 58(1-2), pp. 123-128.

Subbiya, A. et al., 2013. Antibacterial efficacy of *Mangifera indica* L. kernel and *Ocimum sanctum* L. leaves against *Enterococcus faecalis* dental biofilm. *Journal of Conservative Dentistry*, 16(3), pp. 454-457.

Subcommittee on Microbiological Criteria, Committee on Food Protection, National Research Council, 1985. *An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients*. Washington: National Academy Press.

Valentin-Bon, I., Jacobson, A., Monday, S. R. & Feng, P. C. H., 2008. Microbiological Quality of Bagged Cut Spinach and Lettuce Mixes. *Applied and Environmental Microbiology*, Fevereiro, Volume 74, pp. 1240-1242.

Wachtel, M., Whitehand, L. & Mandrel, R. E., 2002. Association of Escherichia coli O157:H7 with Preharvest Leaf Lettuce upon Exposure to Contaminated Irrigation Water. *Journal of Food Protection*, Janeiro, 1(8), pp. 18-25.

Whiting, R. C., 1995. Microbial Modeling in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(6), pp. 467-494.

Wilocokx, F., 1994. The influence of temperature and gas composition on the evolution of microbial and visual quality of minimally processed endive. Em: *Minimal processing of foods and process optimization - An interface*. s.l.:CRC Press.